

**ESTUDIO FARMACOGENETICO DE LA POBLACIÓN  
CARIBE COLOMBIANA, MEDIANTE EL ANÁLISIS DEL  
POLIMORFISMO DEL GEN CYP2C19**

**MARIA ROSA BALDOVINO DÍAZ**

**DIRECTOR: CARLOS SILVERA REDONDO**

**MAESTRIA EN CIENCIAS BASICAS BIOMEDICAS  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA  
DIVISION DE CIENCIAS DE LA SALUD  
UNIVERSIDAD DEL NORTE  
BARRANQUILLA-COLOMBIA  
2009**

**[Carta de Calificación]**

**A mi hijo**

**A mi esposo**

**A mis padres**

## **AGRADECIMIENTOS**

En especial a la Universidad Libre, Institución que hizo posible la realización de este proyecto de vida.

Al Dr. Carlos Silvera, persona imprescindible para la realización de éste trabajo, por su esfuerzo y completa disponibilidad para poder llevarlo a cabo.

Al Dr. Enio Hernández, por su colaboración a nuestro trabajo de investigación con la recolección y aporte de las muestras.

A Juan Carlos Rodríguez por su colaboración y estímulo constante a lo largo de mi vida profesional.

Al Grupo de Investigación en Genética y Medicina Molecular, por todo su apoyo y colaboración.

A Zenén Carmona, por todo su apoyo y colaboración.

A Isis Arias y José Luis Rico por su desinteresada ayuda técnica.

A mi padre por su apoyo y paciencia.

# TABLA DE CONTENIDO

<b>INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>1. MARCO TEORICO</b>	<b>7</b>
1.1 CITOCROMO P450	7
1.2 GENES CYP	14
1.2.1 GEN CYP2C19	20
1.2.2 POLIMORFISMO DEL GEN CYP2C19	23
1.3 POBLACIÓN DEL CARIBE COLOMBIANO	31
1.3.1 INDÍGENAS	34
1.3.2 NEGROS	36
1.3.3 APLICACIONES CLÍNICAS DEL GEN CYP2C19	39
1.3.4 AMPLICHIP	42
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>44</b>
2.1 OBJETIVO GENERAL	44
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
<b>3. JUSTIFICACION</b>	<b>45</b>
<b>4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>47</b>
<b>5. MATERIAL Y MÉTODO</b>	<b>49</b>
5.1 HIPÓTESIS	49
5.2 POBLACIÓN DE REFERENCIA	49
5.3 VARIABLES DEL ESTUDIO	50
5.4 METODOLOGÍA	52
5.4.1 GENOTIPIFICACIÓN DEL GEN CITOCROMO P450 2C19.	52
5.4.2 AMPLIFICACIÓN DE LOS ALELOS CYP2C19 MEDIANTE PCR.	52
5.4.3 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE LA PCR	55
<b>6 RESULTADOS</b>	<b>57</b>
6.1 POBLACIÓN INDÍGENA	57
6.2 POBLACIÓN AFRODESCENDIENTE	59
6.3 POBLACIÓN MESTIZA	61
6.4 COMPARACIÓN DE LAS TRES POBLACIONES DEL CARIBE COLOMBIANO	64

<b>7 DISCUSION</b>	<b>71</b>
<b>7.1 POLIMORFISMO DEL CYP2C19 EN LA POBLACIÓN CARIBE COLOMBIANA</b>	<b>71</b>
<b>7.2 COMPARACIÓN CON OTRAS POBLACIONES</b>	<b>73</b>
<b>8. CONCLUSIONES</b>	<b>80</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b>	<b>81</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>96</b>
<b>ANEXO 1. POBLACIÓN INDÍGENA. CYP2C19 EXÓN 5 POSICIÓN 681</b>	<b>96</b>
<b>ANEXO 2 POBLACIÓN INDÍGENA. CYP2C19 EXÓN 4 POSICIÓN 636</b>	<b>97</b>
<b>ANEXO 3. POBLACIÓN AFRODESCENDIENTE. CYP2C19 EXÓN 5 POSICIÓN 681</b>	<b>98</b>
<b>ANEXO 4. POBLACIÓN AFRODESCENDIENTE. CYP2C19 EXÓN 4 POSICIÓN 636</b>	<b>99</b>
<b>ANEXO 5. POBLACIÓN MESTIZA. CYP2C19 EXÓN 5 POSICIÓN 681</b>	<b>100</b>
<b>ANEXO 6. POBLACIÓN MESTIZA. CYP2C19 EXÓN 4 POSICIÓN 636</b>	<b>101</b>

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Comparación entre las secuencias codificantes de la subfamilia CYP2a y CYP2b entre loci relacionados del ratón y seleccionados en humanos (26)	15
<b>Tabla 2.</b> Principales CyP Humanos y Sustratos sobre los que actúan (9)	22
<b>Tabla 3.</b> Los genotipos más comunes del CYP2C19 (38)	24
<b>Tabla 4.</b> Subgrupo de los alelos CYP en el uso de anticóncitos y antidepresivos, Mutaciones Características, Actividad de la enzima y frecuencia entre caucásicos, africanos y orientales (49)	26
<b>Tabla 5.</b> Frecuencias Alélicas del CYP2C19 en diferentes poblaciones (52)	27
<b>Tabla 6.</b> Distribución de la población indígena según etnias por territorio DANE y departamentos (61)	37
<b>Tabla 7.</b> Tipos de Bandas, posiciones y alelos del CYP2C19	53
<b>Tabla 8.</b> Cebadores utilizados en la Técnica de PCR-CTPP para el CYP2C19	53
<b>Tabla 9.</b> Frecuencia Alélica del CYP2C19 en población Indígena de la Región Caribe Colombiana (n=55). CI=Intervalo de Confianza	58
<b>Tabla 10.</b> Frecuencia Genotípica del CYP2C19 en población Indígena de la Región Caribe Colombiana (n=55). CI=Intervalo de Confianza	58
<b>Tabla 11.</b> Frecuencia Alélica del CYP2C19 en Afrodescendientes de la Región Caribe Colombiana (n=100). CI=Intervalo de Confianza	60
<b>Tabla 12.</b> Frecuencia Genotípicas del CYP2C19 en Afrodescendientes de la Región Caribe Colombiana (n=100). CI=Intervalo de Confianza	61
<b>Tabla 13.</b> Frecuencia Alélicas del CYP2C19 en población Mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=146). CI=Intervalo de Confianza	62
<b>Tabla 14.</b> Frecuencia Genotípica del CYP2C19 en población Mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=146). CI=Intervalo de Confianza	63

<b>Tabla 15.</b> Frecuencia Alélica del CYP2C19 en las tres poblaciones Afrodescendiente, Indígena y mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=100, 55,146). CI=Intervalo de Confianza _____	66
<b>Tabla 16.</b> Frecuencia Genotípica del CYP2C19 en las tres poblaciones Afrodescendiente, Indígena y mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=100, 55,146). CI=Intervalo de Confianza _____	67
<b>Tabla 17.</b> Distribución Inter-étnica de los alelos del CYP2C19 _____	74



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Nomenclatura de las familias y subfamilias de los citocromos (18)	9
<b>Figura 2.</b> Absorbancia característica del CYP 450 (20)	10
<b>Figura 3.</b> Funciones del Citocromo P450 en el metabolismo (18)	12
<b>Figura 4.</b> Esquema del mecanismo de acción del Citocromo P 450. Fe representa el sitio activo del grupo prostético donde se encuentra el átomo de hierro, Substrato RH, RH(H <sub>2</sub> ) producto reducido, ROH producto monooxygenado, y XOOH compuesto peroxidado que puede servir como un donador alternativo de oxígeno. (22)	12
<b>Figura 5.</b> (A) Postulado de la evolución de los grupos de CYP2a-t/CYP2A-T en ratones y en humanos. (B) Diagrama del los grupos de genes telomérico 2 <sup>a</sup> del ratón muestran las hipótesis de las duplicaciones en tandem e invertidas que dieron origen a los tres genes y los tres pseudogenes de este grupo	16
<b>Figura 6.</b> Gen CYP2C19 y su amplia distribución de sus exones (38)	21
<b>Figura 7.</b> Ejemplo que ilustra como el código genético del CYP2C19 (panel izquierdo) determina la actividad enzimática total del CYP2C19 (panel de la mitad) que se encuentra asociado con uno de cuatro fenotipos predictivos (panel derecho) (53)	28
<b>Figura 8.</b> Mapa de Resguardos Indígenas, Territorios Colectivos de Comunidades Negras (Tccn) (61)	38
<b>Figura 9.</b> Esquema de productos de la PCR observados en el gel de agarosa (73)	55
<b>Figura 10.</b> Número de Alelos del CYP2C19 en población Indígena de la Región Caribe Colombiana (n=55)	58
<b>Figura 11.</b> Número de Sujetos por Genotipo del CYP2C19 en población Indígena de la Región Caribe Colombiana (n=55)	59
<b>Figura 12.</b> Número de Alelos del CYP2C19 en Afrodescendientes de la Región Caribe Colombiana (n=100)	60

<b>Figura 13.</b> Número de Sujetos por Genotipo del CYP2C19 en Afrodescendientes de la Región Caribe Colombiana (n=100)	61
<b>Figura 14.</b> Número de Alelos del CYP2C19 en población Mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=146)	63
<b>Figura 15.</b> Número de Sujetos por Genotipo del CYP2C19 en población Mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=146)	64
<b>Figura 16.</b> Número de Alelos del CYP2C19 en las tres poblaciones Afrodescendiente, Indígena y Mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=100, 55,146)	67
<b>Figura 17.</b> Número de Sujetos por Genotipo del CYP2C19 en las tres poblaciones Afrodescendiente, Indígena y Mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=100, 55,146)	68
<b>Figura 18.</b> Distribución de las tres poblaciones Afrodescendiente, Indígena y Mestiza de la Región Caribe Colombiana por Alelos del CYP2C19 (n=100, 55,146)	68
<b>Figura 19.</b> Distribución de Alelos del CYP2C19 en las tres poblaciones Afrodescendiente, Indígena y Mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=100, 55,146)	69
<b>Figura 20.</b> Distribución de las tres poblaciones Afrodescendiente, Indígena y Mestiza de la Región Caribe Colombiana por Genotipos del CYP2C19 (n=100, 55,146)	69
<b>Figura 21.</b> Distribución de Genotipos del CYP2C19 en las tres poblaciones Afrodescendiente, Indígena y Mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=100, 55,146)	70

## RESUMEN

La forma en que el organismo responde al consumo de medicamentos, presenta una gran variación interindividual, debido en parte a variaciones en el propio metabolismo de las drogas. Algunas de estas variaciones metabólicas son consecuencia de variantes genéticas, es decir, que en ciertos genes existen variantes polimórficas que ocasionan que las enzimas codificadas por dichos genes presenten diferentes niveles de actividad.

La farmacogenética se encuentra interesada en conocer entre otros, las variantes genéticas (polimorfismos) de los genes CYP, para de esta forma caracterizar el estado metabólico de la población, y de acuerdo con éste, aplicar una medicina personalizada ya sea a nivel individual y/o de grupo étnico.

Desde hace algunos años, se ha iniciado el estudio del polimorfismo de los genes CYP en diferentes poblaciones, mostrando una relación con la efectividad, la toxicidad y presencia de efectos colaterales de algunos medicamentos en los individuos tratados. Se han descubierto polimorfismos del gen CYP2C19 a través de estudios realizados con drogas anticonvulsiantes (del tipo S-Mefenitoína), permitiendo categorizar a la

población en metabolizadores extensivos (EM) y metabolizadores pobres (PM) para los medicamentos asociados a su metabolismo.

En el CYP2C19 se han descrito al menos de siete a veintiuno alelos diferentes, la mayoría con fenotipos de metabolizadores intermedios o normales. Este gen presenta tres alelos básicos que son CYP2C19\*1, que se considera el alelo con una función enzimática normal y, los alelos CYP2C19\*2 y CYP2C19\*3 que son los alelos mutantes con función enzimática anormal.

Con el fin de contribuir al conocimiento de la farmacogenética en la población Caribe Colombiana mediante el análisis del polimorfismo del gen CYP2C19, se estudiaron tres grupos representativos: Afrodescendientes, perteneciente al Palenque de San Basilio, Departamento de Bolívar, mestizos, e indígenas, pertenecientes a la región de Nabusimake en la Sierra Nevada de Santa Marta. En total se tomaron 301 muestras de sangre total y se utilizó la técnica PCR-CTPP (Reacción en Cadena de la Polimerasa- Confrontación de dos pares de cebadores) descrita por Yoshiko Ishida (2006) para determinar la presencia de los alelos \*1, \*2 y \*3 en estas poblaciones, permitiendo genotipificar y caracterizar a la población Afrodescendiente, mestiza e indígena del caribe colombiano.

La genotipificación de la población Afrodescendiente mostró que un 40% son metabolizadores rápidos, homocigotos (\*1/\*1), 56% Metabolizadores

Intermedios siendo heterocigotos (\*1/\*3) (\*1/\*2) y 4% metabolizadores pobres, heterocigotos (\*2/\*3). En cuanto a la población indígena la genotipificación de esta población fue heterocigota en un 91% con el alelo no funcional CYP2C19 (\*1/\*2) siendo un metabolizador intermedio, seguido en 9%, de metabolizadores pobres para el genotipo (\*2/\*3). No se evidenció los metabolizadores rápidos con genotipo homocigoto para el alelo nativo CYP2C19\*1, (\*1/\*1), ni los metabolizadores intermedios con un genotipo heterocigoto para el alelo no funcional CYP2C19\*3 (\*1/\*3) y homocigoto para los alelos no funcionales (\*2/\*2) y (\*3/\*3). En la población mestiza se encontró que un 32% de los individuos son metabolizadores rápidos con genotipo homocigoto para el alelo CYP2C19\*1, (\*1/\*1), un 28% es metabolizador intermedio con genotipo heterocigoto para el alelo no funcional CYP2C19\*2 (\*1/\*2), y un 23% son metabolizadores intermedios con genotipo heterocigoto para el alelo no funcional CYP2C19\*3 (\*1/\*3). Además, el 12% de los individuos son metabolizadores pobres con genotipo heterocigoto para los alelos no funcionales (\*2/\*3), el 3% son metabolizadores pobres con un genotipo para el alelo CYP2C19 (\*2/\*2) y el 1% son metabolizadores pobres con genotipo homocigoto para el alelo CYP2C19 (\*3/\*3).

Palabras Claves: Farmacogenética, genes CYP2C19, Población Afrodescendiente, mestiza e indígena, polimorfismo.

## ABSTRACT

The pharmacogenetics, is the study of variability in drug response due to heredity, should help in reducing drug-caused morbidity and mortality.

How the body responds to the consumption of drugs, is due to interindividual variation, in the metabolism of drugs. This variations is the result of genetic variants, for example there are variations in certain genes that cause the relevant polymorphic enzymes synthesized to have different levels of activity.

The genetic variants of the CYP genes at the population level in this way to characterize the metabolic status of it and implement it according to a personalized medicine either to individually and / or ethnic group. Most of these variations occur in drug-metabolizing enzyme (DME) genes, DME receptor and drug transporter genes. The degree of variability ( single-nucleotide polymorphisms, SNPs) in the human genome is described, with emphasis on the need to prove that a particular genotype is indeed the cause of a specific phenotype.

In recent years, several studies have shown a relationship between polymorphisms of the CYP genes with the effectiveness, toxicity and side effects of some drugs in different populations. Polymorphisms in the CYP genes have been discovered through studies in the metabolism anticonvulsants drugs (S-type Mephenytoin), allowing to categorize the population into extensive metabolisers (EM) and poor metabolisers (PM) for medicinal products associated with its metabolism. In CYP2C19 have been

described at least seven to twenty one different alleles, the majority of phenotypes with slow metabolisers. The three CYP2C19 alleles are basic CYP2C19 \* 1 allele is considered a normal enzymatic function and the alleles CYP2C19 \* 2 and CYP2C19 \* 3 alleles are mutants with abnormal enzyme function.

we contribute to knowledge of pharmacogenetic in the Colombian Caribbean population, we studied three groups represent a group of African descent belonging to the Palenque de San Basilio, Bolivar, addmixed race and indigenous to the region of Sierra Nevada de Nabusimake Santa Marta . In total 301 samples were taken from whole blood, using the technique described by PCR-CTPP (Chain reaction of polymerase - confronting of two pairs of primers) Yoshiko Ishida (2006). Genotyping of the Afro-descendant population showed that 40% are fast metabolisers, homozygous (\* 1 / \* 1), 56% are intermediate metabolisers being heterozygous (\* 1 / \* 3) (\* 1 / \* 2) and 4% are metabolisers poor, heterozygous (\* 2 / \* 3).

As for the indigenous population genotyping of heterozygous in this population was 91% with non-functional CYP2C19 allele (\* 1 / \* 2) being a intermdio metabolized, followed by a 9% metabolisers poor genotype (\* 2 / \* 3) and were absent metabolisers rapid genotype homozygous for the native allele CYP2C19 \* 1 (\* 1 / \* 1), and metabolize an intermediate heterozygote genotype for the non-functional CYP2C19 allele \* 3 (\* 1 / \* 3 ) and homozygous for the non-functional alleles (\* 2 / \* 2) and (\* 3 / \* 3).

for the mestizo population was 32% of individuals are quick with a metabolisers homozygous genotype for CYP2C19 \* 1 allele, (\* 1 / \* 1), 28% is metabolized to an intermediate heterozygote genotype for the non-functional CYP2C19 allele \* 2 (\* 1 / \* 2), 23% are intermedios metabolisers with a heterozygote genotype for the non-functional CYP2C19 allele \* 3 (\* 1 / \* 3); In addition, 12% of individuals are poor metabolisers with a heterozygote genotype for non-functional alleles (\* 2 / \* 3), 3% are poor metabolisers with an allele genotype for CYP2C19 (\* 2 / \* 2) and 1% are poor metabolisers with a genotype homozygous for the CYP2C19 allele (\* 3 / \* 3).

Key Words: Pharmacogenetic, CYP2C19 genes, populations of African descent, indigenous, and admixed, polymorphisms



## INTRODUCCION

Los individuos responden en forma diferencial al mismo tratamiento farmacológico, y esto puede causar toxicidad de los medicamentos en algunos pacientes, mientras que en otros la experiencia podría ser el fracaso terapéutico. La variación entre individuos se explica por un lado, por la variación genética en genes que codifican para las enzimas metabolizadoras de medicamentos, las proteínas transportadoras y sus receptores y por otro lado, a factores diversos como el estado fisiológico, las condiciones ambientales, la dieta y los contaminantes, así como interacciones con otras drogas,

El complejo enzimático del citocromo P-450 está compuesto por centenares de enzimas que contienen un complejo hemo-porfirina como centro catalítico, rodeado de diferentes estructuras proteicas que le confieren selectividad hacia diferentes sustratos. En los humanos, se han identificado 57 genes que codifican para enzimas del citocromo P-450, Sin embargo, solo un pequeño número de ellos está relacionado con el metabolismo de los fármacos **(1)**.

Para algunos fármacos, la variación en el aclaramiento plasmático entre unos individuos y otros puede variar hasta 10 veces, debido a la presencia

de polimorfismo genético en las enzimas responsables de su metabolismo. Dado que cada individuo tiene una pareja de cromosomas, se presentan dos alelos para cada gen, uno de cada cromosoma. Diferentes alelos producen variaciones en las características hereditarias. Cuando los dos alelos son distintos, uno de ellos (dominante) puede expresarse más que el otro (recesivo).

Uno o más genes que codifican una determinada proteína, por ejemplo, una enzima o un receptor, puede expresarse en diferentes cantidades en distintos tejidos. Las isoenzimas del citocromo P450 están reguladas por factores genéticos y ambientales. De particular interés es el polimorfismo genético en la oxidación de drogas. Dos polimorfismos genéticos en la oxidación de drogas son bien conocidos, la debrisoquina (sparteine) para el polimorfismo CYP2D6 y la oxidación de la mephenytoin para el polimorfismo CYP2C19. Como resultado de estos polimorfismos, tres fenotipos principales existen en la población: metabolizadores intermedios o normales, pobres y rápidos. Los metabolizadores pobres pueden ser propensos a la aparición de reacciones adversas a medicamentos con un estrecho rango terapéutico. En metabolizadores rápidos, pueden ocurrir amplias interacciones clínicamente significativas entre los fármacos metabolizados por la misma isoenzima.

El polimorfismo genético se produce cuando en una población existen dos o más genotipos alternativos en una proporción elevada (>1% de los individuos), que dan lugar a una distribución polimodal. Como resultado de

estos polimorfismos los individuos se clasifican entonces en metabolizadores rápidos (habitualmente la mayoría de la población) o lentos **(2)**. La biotransformación es una de las principales vías de eliminación de fármacos de que dispone el organismo. Las interacciones en el metabolismo de los fármacos provocan un aumento o disminución de la cantidad de medicamento disponible para actuar según sea el metabolismo, inhibido o inducido. La inducción del metabolismo de un fármaco aumenta su aclaramiento, disminuye su concentración y actividad terapéutica. La inhibición del metabolismo de un fármaco incrementa su vida media, la intensidad de su efecto y la posibilidad de efectos tóxicos. **(3)**.

Como los fármacos se eliminan fundamentalmente por metabolismo hepático mediante enzimas, la presencia de polimorfismo puede tener importantes consecuencias clínicas. Los metabolizadores pobres o lentos padecerán las consecuencias de su escasa capacidad metabólica: cuando la actividad clínica se derive del fármaco administrado, tendrán un mayor riesgo de toxicidad y, en cambio, cuando sea un profármaco que requiera activación a través de esta enzima, la eficacia será menor.

La presencia de un polimorfismo influirá también en la capacidad para presentar interacciones metabólicas: los metabolizadores lentos tienen menor riesgo de interacción por inducción enzimática, es decir, que hay una mayor síntesis de enzimas tras la exposición a un agente inductor incrementando así la tasa de biotransformación, disminuyendo la

disponibilidad y actividad del fármaco o aumentando o disminuyendo la toxicidad de este; Y menor riesgo de interacción por inhibición enzimática es decir, la reducción de la actividad de las enzimas microsomales tras la administración de un agente inhibidor que ocasiona mayores concentraciones plasmáticas del fármaco, prolonga el efecto y mayor incidencia de la toxicidad por una sobredosificación **(4)**. Respecto a los metabolizadores rápidos, habitualmente existe amplia variabilidad interindividual: las interacciones por inhibición tienen mayor repercusión clínica cuanto mayor será la actividad metabólica basal; en cambio, las interacciones por inducción son mas evidentes en los que tienen un metabolismo basal menor **(3)**.

La farmacogenetica se encuentra interesada en conocer las variantes (polimorfismos) de los genes relacionados con el metabolismo de los fármacos, como los genes CYP, para de esta forma caracterizar el estado metabólico de la población, y de acuerdo con este, aplicar una medicina personalizada ya sea, a nivel individual o étnico.

Las isoenzimas del citocromo P450, dependen de dos importantes fuentes de variabilidad en el metabolismo de fármacos como son, los factores genéticos y las interacciones farmacológicas. En los seres humanos se han identificado más de 20 diferentes isoenzimas del citocromo P450 responsables del metabolismo hepático de las drogas. Estas se clasifican en familias y subfamilias, sobre la base del grado de similitud de

aminoácidos. De particular interés es el polimorfismo genético en la oxidación de drogas **(5)**. En el Japón se están realizando estudios para identificar las isoenzimas CYP asociadas al tratamiento interindividual, para prescribir los medicamentos con base en el conocimiento de la carta genética **(6)**.

Las enzimas metabolizadoras de drogas representan un importante objetivo de las investigaciones en curso a fin de determinar las asociaciones entre el perfil genético de una persona y la respuesta farmacogenética. El polimorfismo del citocromo P 450 influye en la eficacia analgésica de la codeína, el tramadol y de los antidepresivos tricíclicos (CYP2D6). También se ha encontrado que los niveles sanguíneos de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son dependientes de la actividad del gen CYP2C9, mientras que los receptores de opiáceos se analizan con respecto a las diferencias en la analgesia mediada por opioide y los efectos secundarios **(7)**.

Una de las mayores dificultades del tratamiento en la práctica médica, es la respuesta individual a los medicamentos pero éstos no sólo varían en su eficacia, sino que, además en algunos individuos pueden ocasionar efectos adversos de diferente magnitud **(8)**. En este sentido, una de las causas más comunes de la variación individual en la respuesta a los medicamentos es el

polimorfismo genético de las enzimas metabolizadoras de los medicamentos **(9,10)**.

La farmacogenómica y/o la farmacogenética, estudian los mecanismos mediante los cuales el perfil genético de un individuo afecta la respuesta a los fármacos, y pretende ajustar las dosis y predecir, a través de la asociación entre la respuesta farmacológica y las variantes genéticas, cuáles pacientes serán beneficiados y cuáles no, con el uso de un fármaco, pues las diferencias genéticas condicionan la farmacodinamia y la farmacocinética de los mismos, su metabolismo, excreción y por lo tanto, sus niveles sanguíneos **(11)**. Una de las bases fundamentales del tratamiento médico para las enfermedades en el ser humano, consiste en la administración de medicamentos y/o fármacos que modularían las funciones corporales para controlar la respectiva enfermedad.

# **1. MARCO TEORICO**

Los citocromos forman parte de un sistema de hemoproteínas, que actúan como un complejo enzimático, localizado en las mitocondrias y en el retículo endoplasmico liso del hígado, que cumplen un rol en el transporte de electrones mediante reacciones de oxidorreducción reversible; participan en la desintoxicación de elementos xenobiótico, como los medicamentos, y en el metabolismo de algunos endobióticos, como los esteroides, los eicosanoides y las vitaminas liposolubles **(12)**. Este complejo enzimático esta integrado por 4 familias o grupos principales: a, b, c, y d, según la cadena lateral de la porfirina y el tipo de enlace que une al grupo hemo; cada familia esta constituida por varias subfamilias. La familia mas estudiada es la del citocromo P450.

## **1.1 CITOCROMO P450**

La forma en que el organismo responde al consumo de medicamentos, presenta una gran variación interindividual, debido en parte, a variaciones en el propio metabolismo de las drogas. Algunas de estas variaciones son consecuencia de variantes genéticas, es decir, diferentes polimorfismos en

ciertos genes que provocan que las correspondientes proteínas sintetizadas presenten diferentes niveles de actividad **(13)**.

Los genes de este complejo enzimático, que sería mas apropiado llamarlo “Enzimas efectoras”, han existido desde hace 2500 millones de años; estos genes han participado en muchos procesos fundamentales en las bacterias y, más recientemente, en innumerables procesos críticos de plantas y animales. En la última década, ha quedado claro que cada persona tiene su propia y única 'huella digital' de alelos que codifica para los genes de enzimas efectoras

El principal sistema enzimático implicado en el metabolismo y degradación de drogas en mamíferos es el citocromo P450 (CYP, del inglés *Cytochrome Pigment 450*), ubicado en la membrana del retículo endoplásmico liso con orientación citosólica **(14)**. La nomenclatura, para nombrar los diferentes citocromos P450, considera que las enzimas están divididas en familias, subfamilias y enzimas específicas de acuerdo a su homología aminoacídica.

Las enzimas pertenecientes a la misma familia comparten una homología de la secuencia aminoacídica de al menos el 40%, y las subfamilias de al menos el 50% **(15)**. De acuerdo con la nomenclatura el símbolo de la raíz se escribe en cursiva “*CYP*” en humanos, y “*CyP*” en ratones, seguido por un número arábigo que denota la familia; a continuación, una letra representa la subfamilia (cuando existen dos o más), seguida de un número arábigo que



representa el gen individual dentro de la subfamilia. Si un gen es el único miembro de una familia, la letra de la subfamilia y el número de genes no son necesarios. Se ha Sugerido que el sistema de nomenclatura que se emplea en humanos, se utilice para las demás especies distintas del ratón (16,17). (Figura 1)

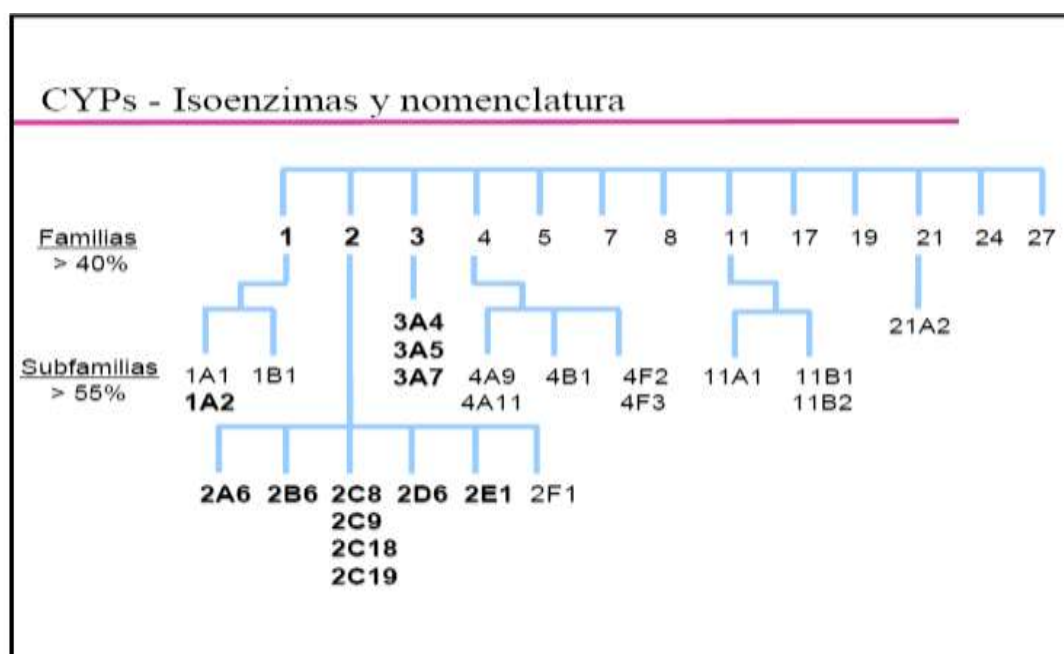
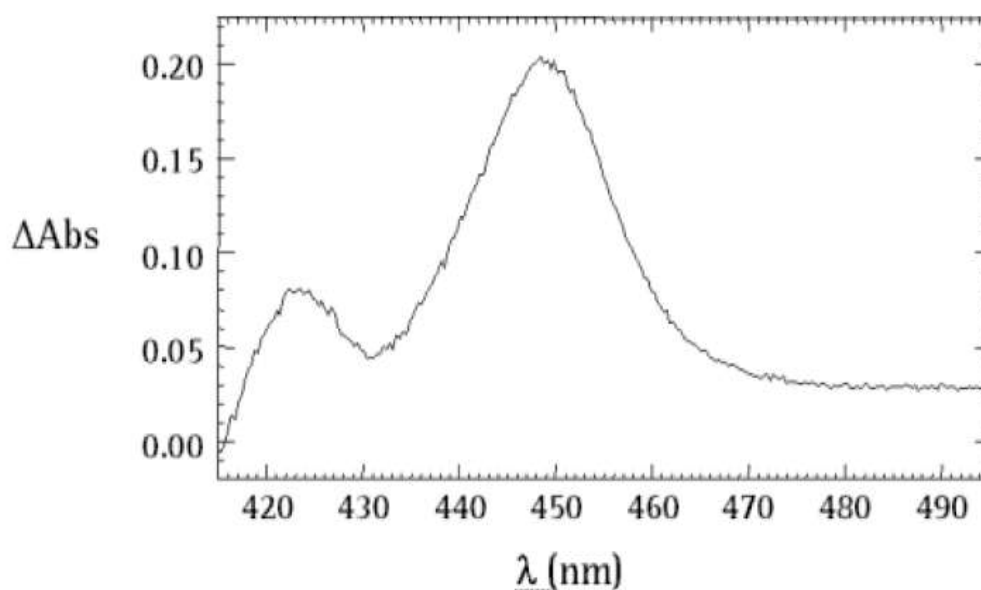


Figura 1. Nomenclatura de las familias y subfamilias de los citocromos (18)

Cuando estas enzimas convergen en la misma vía metabólica para un determinado fármaco o agente del medio ambiente, tales variabilidades genéticas podrían ser sinérgicas y causar de 30 a 40 veces diferencias en la activación o degradación. El resultado final puede ser grandes diferencias interindividuales en el riesgo de toxicidad. El polimorfismo de estos genes en humanos a menudo presenta altas frecuencias de variantes alélicas.

Muchos factores contribuyen a la persistencia de estas, incluida una combinación de presiones selectivas, la dieta, el clima y la geografía, así como de los polimorfismos equilibrados **(19)**.

Este sistema se identificó en 1958 como un pigmento celular reducido y unido a membranas, con un pico de absorbancia inusual a los 450 nm, posteriormente, en 1964, se sugirió el nombre de citocromo P450 por Omura y Sato nombre por el que se conoce actualmente **(20,21)**. **(Figura 2)**



**Figura 2. Absorbancia característica del CYP 450 (20)**

Este complejo constituye una superfamilia enzimática involucrada en el metabolismo oxidativo de compuestos endógenos como esteroides, ácidos

grasoso vitaminas liposolubles (AyD) y en el metabolismo de xenobiótico entre lo que se encuentran muy diversas drogas, carcinógenos, pesticidas, alcaloides, etc. Desde el punto de vista bioquímico esta superfamilia se caracteriza por ser hemoproteínas capaces de transportar electrones. Al ser hemoproteínas, poseen una parte proteica (apoproteína) y un grupo hemo (grupo prostético) donde se localiza un átomo de hierro. **(Figura 3)**

El CYP 450 funciona como una monooxigenasa, es decir, cataliza reacciones en las que se incorpora uno de los átomos de oxígeno y el otro se reduce a  $H_2O$ . Asimismo, precisa de dos sustratos para actuar como reductores de los átomos de la molécula de  $O_2$ . El principal acepta uno de los oxígenos y el cosustrato proporciona átomos de H para reducir el otro a  $H_2O$ . Gracias a su intervención se produce una hidroxilación del sustrato que tiene como consecuencia la formación de productos más solubles en agua y generalmente derivados farmacológicos menos potentes que pueden ser excretados directamente o después de una conjugación con el ácido glucorónico o el glutatión entre otros **(22). (Figura 4)**



El hígado, es el principal órgano relacionado con el metabolismo de los fármacos, muchos de ellos son los sustratos para las enzimas o bien pueden alterar la actividad de éstas a través de la inducción o inhibición de los sistemas enzimáticos microsomales hepáticos, localizados también en el riñón, pulmón, mucosa intestinal, plasma y tejido nervioso, mitocondrias y retículo endoplásmico, siendo estos las fuentes más importantes, las cuales contienen enzimas metabolizantes de fármacos, conocidas como enzimas del citocromo P450 (CYP), las que promueven la eliminación de sustancias liposolubles al ser transformadas en compuestos más polares **(23)**.

## 1.2 GENES CYP

En este sistema enzimático se han descrito 85 genes en eucariotas (incluyendo vertebrados, invertebrados, hongos y plantas) y 20 genes en especies de procariotas; en humanos se han identificado 57 genes que regulan el CYP450 en 10 isoformas responsables del metabolismo oxidativo de la mayoría de medicamentos **(5)**. Se han encontrado 74 familias de genes, de las cuales 14 están presentes en mamíferos. Estas 14 familias comprenden a su vez a 26 subfamilias de las cuales 20 y 15 han sido mapeadas en el genoma humano y de ratón respectivamente.

En el ratón, como organismo modelo de estudio genético en mamíferos, se mapeo un grupo de genes CYP2 en el cromosoma 7, analizando en detalle y comparándolo con grupos homólogos del cromosoma 10 de humanos. El grupo de los ratones incluye 22 loci de las 6 subfamilias CYP2: *CYP2 a, b, f, g, s, t*. que también son encontrados en humanos; 12 de estos genes son funcionales y 10 son pseudogenes **(24)**. **(Tabla 1)**

El mapeo en escala física detallada con la utilización de clones genómicos permitió comprender desde un enfoque exitoso, la relación evolutiva existente entre el grupo de genes CYP2 existente en ratones como también en humanos **(25)**. **(Figura 5)**

**Tabla 1. Comparación entre las secuencias codificantes de la subfamilia *CYP2a* y *CYP2b* entre loci relacionados del ratón y seleccionados en humanos**

Locus	2a5	2a12	2a20-ps (Exons 1, 2)	CYP2A6 <sup>b</sup>
2a4	98% (1,485)	75% (1,491)	72% (345)	83% (1,485)
2a5	—	76% (1,485)	73% (334)	84% (1,485)
2a12	—	—	72% (162)	75% (1,485)
2a22	—	96% (1,506)	—	—
2a21-ps	97% (1,066)	—	—	—
2a23-ps	97% (576)	—	—	—

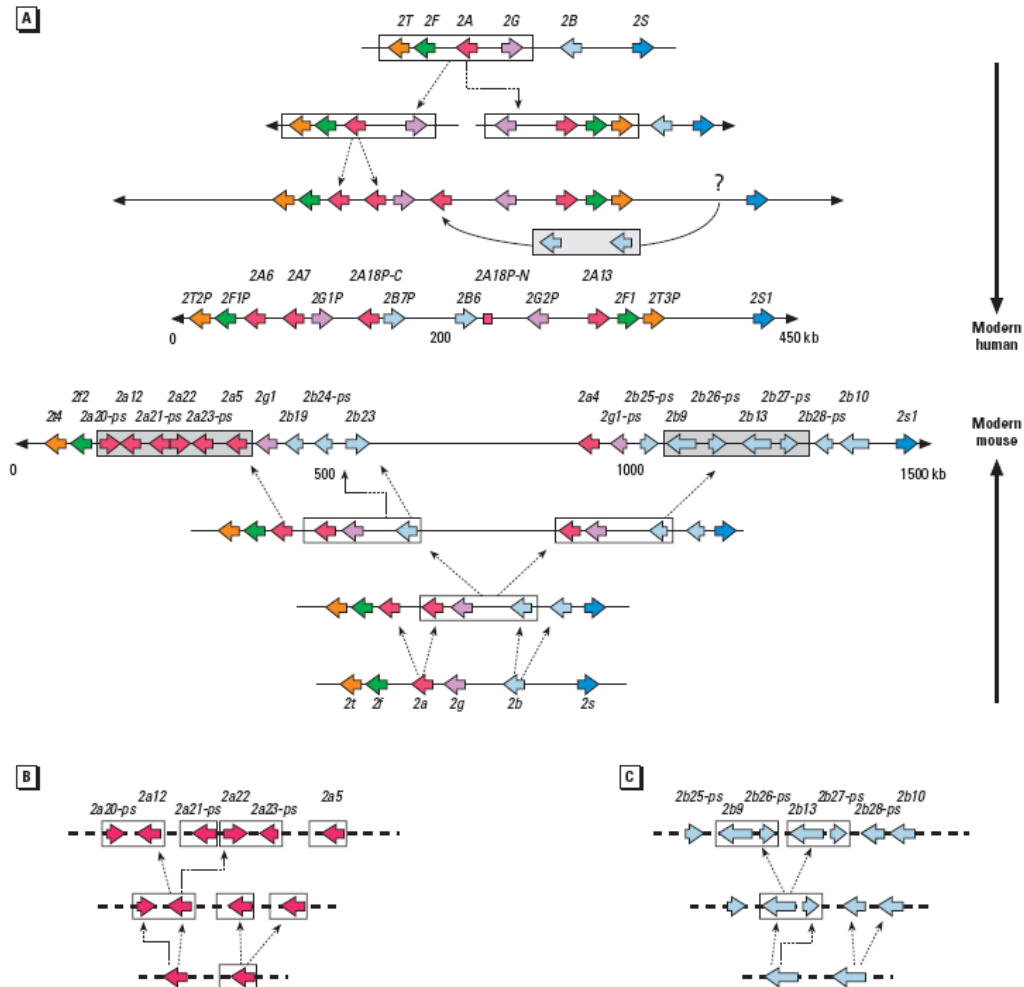
Locus	2b10	2b13	2b19	2b23
2b9	86% (1,503)	92% (1,473)	84% (1,479)	86% (1,476)
2b10	—	85% (1,503)	85% (1,506)	87% (1,476)
2b13	—	—	84% (1,479)	86% (1,462)
2b19	—	—	—	88% (1,425)

Locus	2b24-ps (Exons 7–9)	2b25-ps (Exon 9)	2b26-ps (Exons 4, 5)	2b27-ps (Exons 5–8)
2b9	87% (516)	80% (188)	84% (333)	76% (651)
2b10	86% (509)	82% (184)	85% (334)	78% (656)
2b13	86% (505)	81% (186)	80% (334)	76% (655)
2b19	86% (470)	80% (183)	84% (335)	78% (652)
2b23	86% (505)	85% (182)	82% (334)	81% (506)

Locus	2b28-ps (Exons 1–4)	CYP2B6 <sup>b</sup>
2b9	92% (664)	75% (1,476)
2b10	83% (649)	76% (1,503)
2b13	94% (656)	75% (1,476)
2b19	82% (632)	77% (1,479)
2b23	82% (668)	77% (1,470)

<sup>a</sup>-los números muestran los porcentajes de los nucleótidos idénticos comparados entre secuencias codificantes (en paréntesis). <sup>b</sup> CYP2A6 y CYP2B6 son genes representativos de las mismas subfamilias en humanos. **(26)**

Así como se ha encontrado este citocromo en ratones y en humanos, también se ha hallado en planta superiores en las que se han encontrado 246 genes y 26 pseudogenes, que hace que el citocromo P450 sea una de las más grandes de la familia de proteínas en las plantas superiores **(26)**.



**Figura 5. (A) Postulado de la evolución de los grupos de CYP2a-t/CYP2A-T en ratones y en humanos.** Los nuevos arreglos se muestran en la mitad de la figura con las vías evolutivas separadas de los dos grupos convergentes, como indica las lechas verticales. Las partes finales de los grupos son muy similares pero la duplicación invertida en el grupo CYP2A-T en el humano (25) no está presente en ratones. El grupo telomérico CYP2a y el grupo centromérico CYP2b en ratones (Cajas grises) son probablemente formadas por series de pequeñas duplicaciones, como son mostradas en B y C. Las flechas derechas frustradas indican duplicaciones directas y las flechas dobladas indican duplicación invertidas. Las flechas largas verticales indican tiempo evolutivo. Los pseudogenes en ratón son marcados con el sufijo “p” en vez de “ps” debido a la restricción de los espacios. **(B) Diagrama del los grupos de genes telomérico 2<sup>a</sup> del ratón muestran las hipótesis de las duplicaciones en tamden e invertidas que dieron origen a los tres genes y los tres pseudogenes de este grupo.** Las cajas abiertas muestran la medida de cada bloque duplicado de DNA. Las flechas derechas indican la duplicación directa y las flechas dobladas indican la duplicación inversa. **(C) Diagrama del los grupos de genes centromérico 2b del ratón muestran la series hipotetizadas de duplicación que dio origen a estos grupos**



El análisis funcional de las enzimas CYP450, se puede realizar mediante la administración oral de un compuesto (sustrato) a los individuos y luego medir en orina los metabolitos presentes y definir el tipo de metabolizador que puede ser lento, normal, rápido y ultrarrápido **(27)**. Por otra parte, el conocimiento molecular de los genes codificadores de las enzimas permite definir el genotipo de los individuos y de esta forma hacer la correlación genotipo/fenotipo de la población analizada **(28,9)**.

El primer polimorfismo hallado en una enzima involucrada en el metabolismo de drogas se describió en los años 50 a raíz de la alta incidencia de neuropatías periféricas en individuos descritos como metabolizadores rápidos o lentos en respuestas al antituberculoestático isoniazida. Posteriormente se observó, a través de estudios familiares, que el fenotipo metabolizador lento era debido a una mutación que se transmitía a la descendencia de forma recesiva **(13)**.

La variabilidad interindividual en la respuesta a los fármacos es una importante causa de efectos adversos. En muchos casos esta variabilidad está ligada al polimorfismo de genes que codifican las enzimas responsables del metabolismo de dichos fármacos. La mayoría de enzimas que metabolizan fármacos son polimórficas debido a la presencia de mutaciones en los genes que las codifican. Estas mutaciones, que consisten en la ausencia completa del gen, polimorfismos de un solo nucleótido, aislados o

combinados y duplicaciones génicas, causan ausencia, reducción, alteración o incremento de la actividad enzimática **(29)**.

Los portadores de mutaciones en genes codificadores de enzimas metabolizadoras de fármacos, cuando son tratados con la dosis estándar de un fármaco que sea sustrato de la enzima afectada, suelen presentar niveles plasmáticos más elevados, cifras de aclaramiento más bajas y un incremento en la frecuencia y severidad de reacciones adversas secundarias al uso de dicho fármaco. Las enzimas citocromo P450 2C8 (CYP2C8) y 2C9 (CYP2C9) pertenecen a una de las principales familias de enzimas implicadas en el metabolismo de fármacos. Los genes que codifican estas dos enzimas, junto a los que codifican los otros componentes de CYP2C, denominados CYP2C18 y CYP2C19, se agrupan en dos clusters consecutivos en el cromosoma 10 y muestran un alto grado de asociación, de modo que la presencia de mutaciones en uno de los genes suele coincidir con mutaciones en otros genes del cluster **(30)**.

El genoma humano contiene  $3 \times 10^9$  pares de bases y la variabilidad genética entre individuos o sea, su polimorfismo, es aún menor, alrededor del 0.1%. Ello representa  $3 \times 10^6$  pares de bases susceptibles de presentar cambios de un solo nucleótido o el de polimorfismos múltiples. El 90% de la diversidad fenotípica humana proviene de las variaciones heredadas en una sola base o SNP (de *single nucleotide polymorphism*) **(31)**.

Un gen polimórfico es definido como una variante estable de un gen, con una actividad enzimática alterada, que existe en una población con una frecuencia conocida **(32)**. El polimorfismo es la menor alteración que puede experimentar la secuencia de ADN de un individuo, y se origina por el intercambio recíproco de los nucleótidos: adenina, citosina, timina o guanina; el más común de los polimorfismos ocurre aproximadamente cada 100 a 1.000 bases, en cantidad variable y distribución aleatoria a lo largo del genoma humano **(33)**.

Los tipos más comunes de polimorfismos son los llamados polimorfismos de nucleótido único o SNP que se producen con una frecuencia de alrededor de 1 por cada 1000 pares de bases en el genoma humano. El intercambio debe estar presente en más de un 1% de la población, y la definición más precisa sería "la aparición en la misma población de dos o más alelos en un locus, cada uno con una frecuencia de por lo menos 1%.

La frecuencia de una variante de alelos específicos varía entre las poblaciones, y mientras algunas variantes pueden ser bastante frecuentes en una población, pueden estar totalmente ausentes en otras **(34)**. Cuando los SNPs se encuentran integrando exones dan lugar, en la mayoría de los casos, a proteínas con expresión, estructura o funciones biológicas alteradas y se conocen como SNPs codificantes (cSNPs). Los SNPs actúan como improntas de nacimiento y su variedad caracteriza al grupo poblacional. Debido a que son relativamente estables genéticamente, los SNPs actúan

como verdaderas señales biológicas. Su localización en zonas bien definidas del ADN permite elaborar mapas cromosómicos indicadores de su posición relativa respecto de genes conocidos y a la vez, caracterizar las interacciones con otros genes **(35)**. Cada individuo es portador de un patrón propio de SNPs que lo identifica y que comparte con su grupo étnico.

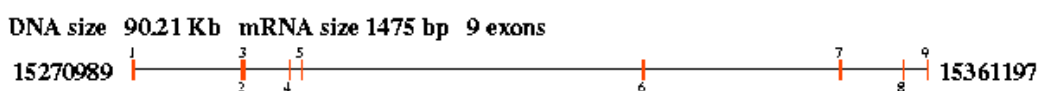
### **1.2.1 GEN CYP2C19**

Desde hace algunos años, se ha iniciado el estudio del polimorfismo de los genes CYP en diferentes poblaciones. La subfamilia del CYP2C está integrada en humanos por cuatro miembros (CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19), exhibiendo polimorfismo genético principalmente CYP2C9 y CYP2C19, los cuales han mostrado una relación con la toxicidad de algunos medicamentos en individuos afectados, pudiendo alterar la eficiencia de otras drogas.

Históricamente se han descubierto polimorfismos de esta subfamilia a través de estudios realizados con drogas anticonvulsiantes, permitiendo categorizar a la población en estudio en Rápido Metabolizador (RM) y pobres metabolizadores (PM) de estas drogas. Las características de los PMs son de carácter autosómico recesivo representando solo un 3-5% de la población caucásica y un 12-23% de la población Asiática **(9)**. El fenotipo de

PM es más común en la Polinesia y Micronesia con una alta incidencia, de 38-79% en poblaciones pertenecientes a Vanuatu, isla pacífica **(36)**. Entre los genes más estudiados se encuentran CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 entre otros **(37)**.

El gen CYP2C19 se localiza en el cromosoma 10 y tiene un tamaño de 90 kb con nueve exones expresando 1475 pb de mRNA. **(Figura 6)**



**Figura 6. Gen CYP2C19 y su amplia distribución de sus exones (38)**

Se ha demostrado que este gen metaboliza drogas anticonvulsiantes como la S-mefentoina, una gran diversidad de agentes terapéuticos antiulcerosos como el omeprazol y otros importantes inhibidores de la bomba de protones **(39)**, usados en combinación con tratamientos antibacteriales para la erradicación de infecciones causadas por *H. pylori*. **(Tabla 3)**

El CYP2C19 codifica la mephenytoin 4-hidroxilasa más comúnmente conocida como la enzima CYP2C19, involucrada en el metabolismo de

muchos anti-depresivos, como escitalopram y citalopram **(40)**. Muchos otros medicamentos también son metabolizados por el CYP2C19 **(27)**.

Curiosamente, Cipralex es uno de los pocos medicamentos que viene con una recomendación de dosis para las personas clasificadas como PM CYP2C19.

**Tabla 2. Principales CyP Humanos y Sustratos sobre los que actúan (9)**

<b>Subfamilia</b>	<b>Enzima</b>	<b>Sustrato</b>
<b>CYP1A</b>	<b>1A1</b>	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
	<b>1A2</b>	Cafeína, fenacetina
<b>CYP1B</b>	<b>1B1</b>	Algunos hidrocarburos aromáticos policíclicos, 17 b-estradiol
<b>CYP2A</b>	<b>2A6</b>	Cumarina, (metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK), nitrosamina encontrada en el tabaco, nicotina
<b>CYP2B</b>	<b>2B6</b>	4-hidroxilación de ciclofosfamida, S-mefenitoina-demetilación, ciertos barbitúricos, 7-etoxi-4-trifluorometilcuramina (7EFC)
<b>CYP2C</b>	<b>2C19</b>	S-Mefenitoina (anticonvulsante), omeprazol (antiulceroso), proguanil (antipalúdico), ciertos barbitúricos, diazepam (valium), propanodol (b-bloqueante), imipramina (antidepresivo), ciertos herbicidas
	<b>2C9</b>	Fenitoina (anticonvulsante), drogas anti-inflamatorias como el ibuprofeno, warfarina (anticoagulante), tolbutamida (droga diabética)
	<b>2C8</b>	Taxol, ácido retinoico
<b>CYP2D</b>	<b>2D6</b>	Antihipertensivos: debrisoquina b-bloqueantes: metoprolol, propanodol, bufuralol Antidepresivos: nortriptilina, desipramina, clomipramina Neurolépticos: tioridacina, perfenazina, trifluoperidol, clozapina Opiáceos: dimetilación de codeína a morfina
<b>CYP2E</b>	<b>2E1</b>	Alcohol, tetracloruro de carbono, benceno, drogas como el acetaminofén (tilenol), activa nitrosaminas a mutágenos y carcinógenos
<b>CYP3A</b>	<b>3A4</b>	60% de drogas usadas clínicamente como eritromicina (antibiótico), nifedipina (antihipertensivo), lidocaina (anestésico), ciclosporina (droga inmunosupresiva), 17a-etnilestradiol (estrógeno de reemplazo), tamoxifeno (usado para el cáncer de pecho), lovastatina (usada para disminuir niveles de colesterol), dapsona (lepra), testosterona, cortisol (hormonas)
	<b>3A5</b>	Mismo patrón de sustratos que CYP3A4
	<b>3A7</b>	Forma fetal; metaboliza sustratos del CYP3A4
<b>CYP4A</b>	<b>4A11</b>	Ácidos grasos, clofibrato (droga hipolipidémica)

En psiquiatría el CYP2C19 cataliza el metabolismo de algunos antidepresivos tricíclicos y barbitúricos de alta relevancia ya que es

altamente polimórfico y se encuentra distribuido ampliamente en las poblaciones; la presencia del número de variantes alélicas se relaciona con diferentes grados de importancia funcional. Además de la naturaleza del tipo de gen, las dos variantes alélicas conocidas están asociadas con la ausencia total de actividad.

### **1.2.2 Polimorfismo del gen CYP2C19**

En el CYP2C19 han sido identificados muchos polimorfismos, en su mayoría como SNP **(41)**, pero sólo unos pocos genotipos se presentan con alguna frecuencia en las poblaciones. El más común es el genotipo CYP2C19\*1, que tiene la actividad enzimática normal. Otros tres genotipos principales también frecuentemente vistos, son: CYP2C19 \*2, CYP2C19 \*3, CYP2C19\*4 **(Tabla 3)**. El menos común es el CYP2C19\*4, genotipo que es visto principalmente en los caucásicos con una frecuencia del 0.6% **(42)**.

En un estudio con pacientes japoneses con úlceras duodenales o peptídicas recibieron terapias con dosis bajas de omeprazol y amoxicilina arrojando un resultado de curación en 100% en PM, 60% de los cuales eran heterocigotos conteniendo un alelo mutante y 29% de los individuos eran homocigotos para el alelo tipo salvaje CYP2C19\*1 **(43,44)**.

**Tabla 3. Los genotipos más comunes del CYP2C19 (38)**

<b>Alelos Principales</b>	<b>posición Principal del SNP en cDNA y Cambio de nucleotido</b>	<b>Variación de la secuencia</b>	<b>Efecto</b>
<i>CYP2C19*2</i>	Exon 5, 681: G>A	5'-...TTTCCC <b>G</b> GGAACCC... 5'-...TTTCCC <b>A</b> GGAACCC...	Corte y empalme defectuoso Codon de parada prematuro
<i>CYP2C19*3</i>	Exon 4, 636: G>A	5'-...CCCCTG <b>G</b> ATCGCAA... 5'-...CCCCTG <b>A</b> ATCGCAA...	codon de Parada
<i>CYP2C19*4</i>	Exon 1, 1: A>G	5'- <b>A</b> TGATCCTTTTGTGGTT... 5'- <b>G</b> TGATCCTTTTGTGGTT...	codon de No iniciación

Los PM se encuentran con más frecuencia en la población de Asia, donde 13 - 23% de todas las personas se clasifican como tal. En la población caucásica son vistos con menor frecuencia, pues sólo 2 - 5% se clasifican como PM **(42)**. El mayor alelo defectuoso del CYP2C19 responsable del fenotipo de PM es CYP2C19\*2 con una frecuencia alélicas de 13% en Caucásicos, cerca del 20% en Africanos y máximo del 32% en Orientales **(Tabla 4)**. CYP2C19\*3 esta predominantemente limitado a Orientales con una frecuencia alélica de alrededor del 8% **(37)**.

Los genotipos CYP2C19 \* 2 y CYP2C19 \* 3 son responsables del 99% de PM en la población de Asia y del 87% en la población caucásica **(5,10,23)**. Lo más importante es que hasta el 32% de la población de Asia son portadores del alelo CYP2C19\*2 **(45)**.

Las secuencias de todo el gen CYP2C19 pueden ser encontradas en el Centro Nacional para Información sobre Biotecnología (NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).



Algunos barbitúricos son parcialmente responsables por el metabolismo de ciertos B-bloqueadores adrenoreceptores como el propranolol **(46, 47)** y la biotransformación del cicloguanil que es un metabolito activo del proguanil en las drogas antimaláricas **(48)**. Dentro del gen, la parte más predominantemente polimórfica son 2 alelos nulos, en los que uno exhibe una mutación en el exón 5 y el segundo contiene un codón de terminación prematuro en el exón 4. Al menos 7 diferentes inactivaciones en mutaciones del CYP2C19 han sido descritas.

**Tabla 4. Subgrupo de los alelos CYP en el uso de antipsicóticos y antidepresivos, Mutaciones Características, Actividad de la enzima y frecuencia entre caucásicos, africanos y orientales (49)**

Designation	Characteristic mutation(s)	Enzyme activity	Allelic frequency (%)		
			Caucasian	African	Oriental
<i>CYP2D6*1</i>	Wild-type	Normal			
<i>CYP2D6*2</i>	Several substitutions	Normal	18	20	10
<i>CYP2D6*3</i>	A <sub>2549</sub> deletion	Deficient	2	0	0
<i>CYP2D6*4</i>	G <sub>1846</sub> A substitution	Deficient	12-22	1-2	0-1
<i>CYP2D6*5</i>	Gene deletion	Deficient	2-7	4-6	6
<i>CYP2D6*9</i>	G <sub>2613</sub> -A <sub>2613</sub> deletion	Decreased	2	2	3
<i>CYP2D6*10</i>	C <sub>106</sub> T substitution	Decreased	1-2	4-6	51
<i>CYP2D6*17</i>	C <sub>1023</sub> T, C <sub>2850</sub> T substitutions	Decreased	0	17-35	0
<i>CYP2D6*41</i>	C <sub>1384</sub> G, G <sub>2984</sub> A substitutions	Decreased	8	10	3
<i>CYP2D6 x2</i>	Gene(multi)duplication	Increased	1-10	2-29	0-2
<i>CYP2C9*1</i>	Wild-type	Normal			
<i>CYP2C9*2</i>	C <sub>436</sub> T substitution	Decreased	8-13	4	0
<i>CYP2C9*3</i>	A <sub>1075</sub> C substitution	Decreased	6-9	2	2-3
<i>CYP2C19*1</i>	Wild-type	Normal			
<i>CYP2C19*2</i>	G <sub>481</sub> A substitution	Deficient	13	13-25	23-32
<i>CYP2C19*3</i>	G <sub>436</sub> A substitution	Deficient	0	0-2	6-10

Los alelos del gen CYP2C19 incluyen mutaciones que dan origen a alelos nulos con función enzimática anormal que son el resultado de una simple sustitución en una base (G>A), alterando el marco de lectura del RNA mensajero: el aminoácido 215 que corresponde al alelo CYP2C19\*2 produce un codón de terminación 20pb corriente abajo, generando un truncamiento en la proteína. Esta variante genera un fenotipo de PM **(10)**.

En el CYP2C19 se han detectado al menos 7 alelos diferentes, la mayoría con fenotipos de PM **(36)**. Presenta tres alelos básicos que son CYP2C19\*1,

considerado el alelo con una función enzimática normal y, los alelos CYP2C19\*2 y CYP2C19\*3 para ausencia de actividad enzimática (50); se describen hasta 21 variantes alélicas de este gen, aunque con los tres alelos anteriores se definen los dos tipos de metabolizadores, pobres y rápidos, asociados a el (51). En general el polimorfismo del gen CYP2C19, basado en los tres alelos anteriores muestra una distribución de (PMs) de 2-5 % en Caucásicos y de 13-23 % en Orientales (37). (Tabla 5)

Para la variante CYP2C19\*2 el fenotipo de PM fue 7 de cada 10 caucásicos y 10 de cada 17 individuos japoneses, y para la variante CYP2C19\*3 de PM se encontró en 7 individuos japoneses y no se identificó en caucásicos (50).

**Tabla 5. Frecuencias Alélicas del CYP2C19 en diferentes poblaciones (52)**

Gene	Allele	Africans	African Americans	Asians (1)	Caucasians (2)
CYP2C19	CYP2C19*1	83 - 86 %	78 - 81 %	54 - 69 %	~ 86 %
	CYP2C19*2	14 - 17 %	19 - 22 %	20 - 39 %	~ 13 %
	CYP2C19*3	< 1 %	< 0.1 %	5 - 12 %	~ 0.4 %
	CYP2C19*4	n.i.	n.i.	n.i.	~ 0.6 %
	CYP2C19*5	n.i.	n.i.	rare	n.i.

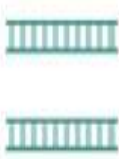
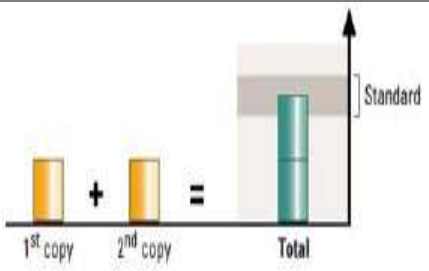
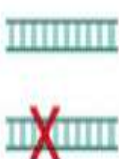
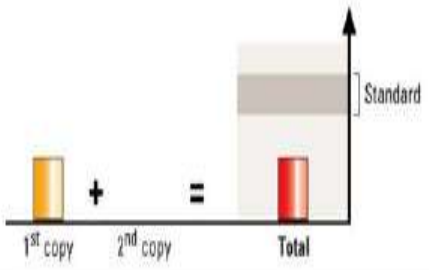
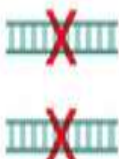
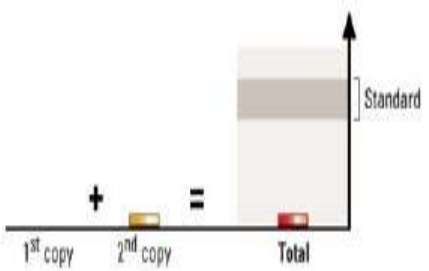

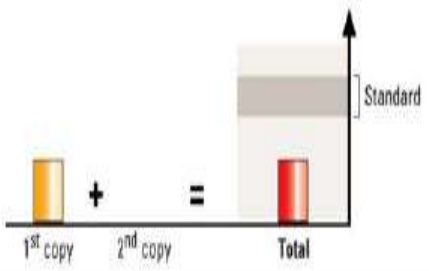
CYP450 Farmacogenética (Ejemplo: CYP2C19)		
Genotipo	Actividad Enzimática	Fenotipo Predictivo
<b>1</b> No Variante Alélica Detectada  <div>*1</div> <div>*1</div>		RM Rápido Metabolizador
<b>2</b> Una Variante Alélica Detectada  <div>*1</div> <div>*2</div>		IM Intermedio Metabolizador
<b>3</b> Dos Variantes Alélicas Detectadas  <div>*3</div> <div>*2</div>		PM Pobre Metabolizador
<b>4</b> Una Variante Alélica Detectada  <div>*1</div> <div>*3</div>		IM Intermedio Metabolizador

Figura 7. Ejemplo que ilustra como el código genético del CYP2C19 (panel izquierdo) determina la actividad enzimática total del CYP2C19 (panel de la mitad) que se encuentra asociado con uno de cuatro fenotipos predictivos (panel derecho) (53)

En las poblaciones afrodescendientes de africanos negros y americanos negros se ha encontrado baja frecuencia del fenotipo y genotipo PM. El fenotipo ha oscilado entre 1% y 7.5% con frecuencia global de 3.9%; la frecuencia genotípica del PM en negros fue 3.7%, de RM e intermedio metabolizador (IM) fue del 29%. Las distribuciones alélicas fueron las esperadas con 82.3% para CYP2C19\*1, 17.3% para CYP2C19\*2 y 0.4% para CYP2C19\*3, encontrándose una baja presencia de alelos defectuosos y una proporción muy pequeña de heterocigotos que son RM y IM **(54)**.

En la población Nigeriana se encontró que la prevalencia de los PMs es de 4,8% y que esta prevalencia es similar a la de los caucásicos y otras poblaciones africanas **(55)**. En la población Egipcia según (Hamdy, et al, 2002) se encontró una alta incidencia del alelo CYP2C19\*2, similar al encontrado en la población asiática; para los metabolizadores rápidos se encontró 28% homocigotos (CYP2C19\*1/\*1), 60% heterocigotos para el genotipo CYP2C19\*1/\*2 y \*1/\*3, que Hamdy clasifica como rápido metabolizador **(56)**.

En la población de Tanzania se encontró para el gen CYP2C19 que el 1.5% de la población son PMs con genotipo CYP2C19\*2/\*2, además se encontró que el 6.4% tiene genotipo CYP2C19\*1/\*2 y 82.05% CYP2C19\*1/\*1 **(57)**.

Con relación a la población Indígena se han realizado estudios en 13 poblaciones de Americanos Indígenas donde se evaluó la evidencia sobre la prevalencia del polimorfismo de los CYP4502A6, 2D6, 2C9, 2C19 y 2E1 como factores genéticos que afectan la eficacia y seguridad de las drogas en estas poblaciones del hemisferio Americano

En Colombia, actualmente se realizó un estudio que incluye al gen CYP2D6 en población mestiza de la ciudad de Pereira. El análisis mediante secuenciación de ADN, mostró una elevada frecuencia de los alelos funcionales CYP2D6\*1 y \*2 y menor frecuencia de los alelos no funcionales. Además, se describe una genómica acorde con el tipo de población triétnica presente en los países de Latinoamérica **(58)**.

En la región Caribe colombiana es manifiesta la presencia de grupos mestizos, afrodescendientes e indígenas que conviven estrechamente y conservan un acervo genético cuasi-específico **(59,60)**, circunstancia que permite deducir la importancia que tendría investigar estos grupos étnicos, dado que en la región caribe colombiana no existen estudios encaminados al conocimiento de la farmacogenómica de su población. Esta situación se torna mas importante aun, en la medida en que se inicie la aplicación práctica del genotipo CYP para la selección ya sea individual o étnica de los medicamentos y en el tratamiento de las enfermedades. Por lo anterior, el presente trabajo propone el inicio del conocimiento de la farmacogenómica

de la población Caribe colombiana empezando con el estudio del gen CYP2C19 y su posible continuación con los genes CYP de mayor importancia clínica.

### **1.3 Población del Caribe colombiano**

La nación colombiana es hoy en día producto del más variado mestizaje, donde interactúan la cultura y las tradiciones de los pueblos americanos, europeos y africanos; esta situación de diversidad compartida con otras naciones americanas, la hace particular respecto a muchos países del mundo. Con base a los antecedentes históricos y relacionando con el descubrimiento de América, en Colombia como en otros países de Latinoamérica, se pueden diferenciar tres grupos étnicos principales: los pueblos indígenas, las poblaciones negras o afrodescendientes, y los mestizos **(61)**.

Los mestizos, población mayoritaria de Colombia y del caribe colombiano, es el producto del cruce entre el blanco español, el aborigen y el negro africano, traído como esclavo durante la época de la colonia.

Los afrodescendientes comprenden los afrocolombianos, raizales y Palenquero. Los indígenas son los descendientes de los aborígenes que habitaron el territorio antes de la llegada del español.

El año 1492, con el llamado descubrimiento de America, marca una huella en la historia mundial y en la transformación de las culturas de todo el planeta. Es un espacio en el tiempo y en la geografía, donde múltiples culturas se encuentran.

Entre las investigaciones que se han realizado de la historia americana no hay un acuerdo acerca del volumen de la población aborigen en el continente antes de la llegada de Cristóbal Colón. Los datos fluctúan entre cien millones y tres millones y medio de habitantes **(62)**. Lo cierto es que América estaba poblada por una variedad de culturas, de símbolos, de tradiciones, de costumbres, de artes, de conocimientos y saberes., que fueron ignoradas, menospreciadas y destruidas, en su gran mayoría, por los invasores que llegaron de Europa con su afán de riqueza, de dominación y con sentimientos de una ilusoria superioridad.

Fue de tal magnitud el exterminio de los pueblos indígenas en América, que en 1504 se da inicio al mercado de africanos como mano de obra al servicio de los colonizadores. En 1520 la Casa de Contratación de Sevilla acelera la entrada de negros introduciendo en América aproximadamente 4000 personas cada año; fue tal la magnitud de la trata que en 1533 la Corona española se vio obligada a establecer permisos para que sus súbditos españoles introdujeran esclavos negros en sus colonias. Esta medida



significó, una vez más, la dominación y el exterminio de nuevos pueblos, que en sus tierras africanas fueran hacedores de culturas florecientes **(63)**.

El encuentro de culturas diversas en tierras americanas, aún en condiciones adversas, fue la cimiento que propició el inicio de novedosas formas de relaciones, de cosmovisiones, de sentires que con el tiempo se fueron afianzando, reacomodando y reinventando el mundo.

Desde finales del siglo XVI los esclavos, negros prófugos llamados cimarrones, constituían un grave problema para la corona española. Eran innumerables los casos de esclavos que huían formando palenques o comunidades organizadas bajo un liderazgo político y militar que protegían sus asentamientos con armas y empalizadas.

En la costa Caribe florecieron; fueron diezmados por las armas de los españoles, perseguidos, por sus perros y por milicias. El Palenque de san Basilio en el Municipio de Mahates (Bolívar), no solamente sobrevivió al régimen colonial y al abandono de los gobiernos republicanos, sino que ha sido declarado el primer pueblo libre de América, demostrando que la fortaleza de la cultura expresada en la lengua, en las tradiciones, en las costumbres, les ha permitido a través de los siglos reinventar nuevas posibilidades de existencia **(61)**.

Los pueblos indígenas, en el siglo XIX con la independencia, se vieron enfrentados a nuevas realidades. Las leyes dictadas entre 1821 y 1838 dispusieron la disolución de los resguardos que fueron distribuidos por porciones de tierra entre las diferentes familias, que tenían la facultad de venderlas y negociar con ellas, con el argumento del libre comercio, acabando de esa manera la propiedad colectiva tradicional entre estos pueblos.

La existencia de indígenas y negros en Colombia como conglomerados humanos con especificidades particulares que denotan mundos plétóricos de significados contenidos en sus conocimientos, saberes, relaciones y por lo tanto en prácticas sociales diversas que implican formas distintas de ser, de sentir y de actuar frente a las necesidades, las problemáticas y las posibilidades de concebir la vida, constituye una riqueza inconmensurable en el concierto de la vida nacional **(64)**.

### **1.3.1 Indígenas**

Según el censo general del año 2005, en Colombia residen 87 pueblos indígenas **(Tabla 6)** según clasificación de Grupos étnicos del DANE, los cuales están identificados plenamente. La mayoría de la población indígena se ubica en el área rural del país en 107 resguardos indígenas legalmente constituidos en 20 parcialidades indígenas, o en territorios no delimitados

legalmente. Se encuentran ubicados en las regiones naturales como la selva, las sabanas naturales de la Orinoquía, los Andes colombianos, en los valles interandinos y en la región del caribe en especial en la Sierra Nevada de Santa Marta. **(Figura 8)**

El pueblo Wiwa es uno de los cuatro pueblos que habita la Sierra Nevada de Santa Marta, ubicada entre los departamentos del Cesar, Magdalena y Guajira. Los Wiwa se encuentran en la vertiente suroriental y el norte de la Sierra, así como en el municipio de Santa Marta y parte de la Serranía del Perijá, en el municipio de Becerril (Cesar). Se trata de un pueblo agricultor, descendiente de la civilización Tairona que hablan la lengua Damana.

Este pueblo ha sido conocido con diferentes nombres a lo largo de su historia: arzario, guamaca, malayo, zanja y dumana. Sin embargo es necesario precisar que “estos indígenas reclaman y reivindican el nombre Wiwa para su pueblo como parte de su proceso de afirmación étnica y cultural **(65)**.”

El primer elemento de la palabra, wi, es un lexema que indica algo caliente y que también se encuentra como radical en algunas palabras compuestas con el significado de engendrar, dar origen, y wa, es una especie de clasificador o morfema que se utiliza para derivar nombres cuyos elementos pueden numerarse. De acuerdo con esto el vocablo Wiwa remite a los originarios de tierras cálidas **(65)**.

### 1.3.2 Negros

San Basilio de Palenque es un corregimiento ubicado a unos 60Km. al sureste de Cartagena, en el departamento de Bolívar. Sus cerca de 3500 habitantes son poseedores de un importante legado cultural que con mucho esfuerzo han logrado conservar. Fue proclamado como Obra Maestra del Patrimonio Oral a Inmaterial de la Humanidad por la UNESCO en el 2005.

La palabra "palenque" hace referencia a las empalizadas levantadas por los esclavos negros fugitivos, durante la época colonial, para refugiarse de sus perseguidores. El de San Basilio, es un palenque fundado en el siglo XVII por un grupo de cimarrones que, bajo el comando de Domingo Biohó, también conocido como Benkos Biohó, huyeron para recuperar su libertad. Las hazañas de este insigne personaje le representaron posteriormente a San Basilio de Palenque el reconocimiento de su autonomía como pueblo de afrodescendientes por decreto de la Corona Española, convirtiéndolo así en el primer pueblo libre de América **(66)**.

Hablan la lengua criolla afrocolombiana: el palenquero. Este pueblo ha logrado existir, en parte, gracias al relativo aislamiento en que había vivido hasta hace poco **(67)**. **(Figura 8)**

**Tabla 6. Distribución de la población indígena según etnias por territorial DANE y departamentos (61)**

<b>Territoriales DANE y departamentos</b>	<b>Pueblos indígenas o etnias</b>
<b>Norte</b>	
Atlántico	Mokana
Cesar	Arhuaco, Kogui, Wiwa, Yuko, kankuamo
La Guajira	Arhuaco, Kogui, Wayuu, Wiwa
Magdalena	Arhuaco, Chimila, Kogui, Wiwa
Sucre	Senú,
<b>Noroccidental</b>	
Antioquia	Embera, Embera Chamí, Embera Katio, Senú, Tule
Córdoba	Embera Katio, Senú
Chocó	Embera, Embera Chamí, Embera Katio, Tule, Waunan
<b>Nororiental</b>	
Arauca	Betoye, Chiricoa, Hitnu, Kuiba, Piapoco, Sikuani, U'wa
Norte de Santander	Bari, U'wa
Santander	(U'wa), Guanes
<b>Central</b>	
Boyacá	U'wa, Muisca
Caquetá	Andoke, Coreguaje, Coyaima, Embera, Embera katio, Inga, Makaguaje, Nasa, Uitoto
Casanare	Amorúa, Kuiba, Masiguare, Sáliba, Sikuani, Tsiripu, Yaruros, U'wa
Cundinamarca	Muisca
Huila	Coyaima, Dulos, Nasa, Yanacona
Amazonas	Andoke, barasana, Bora, Cocama, Inga, Karijona, Kawayari, Kubeo, Letuama, Makuna, Matapi, Miraña, Nonuya, Ocalina, Tanimuka, Tariano, Tikuna, Uitoto, Yagua, Yauna, Yukuna, Yuri
Guainía	Kurripako, Piapoco, Puinave, Sikuani, Yeral
Guaviare	Desano, Guayabero, Karijona, Kubeo, Kurripako, Nukak, Piaroa, Piratapuyo, Puinave, Sikuani, Tucano, Wanano
Vaupés	Bara, Barasana, Carapana, Desano, Kawayari, Kubeo, Kurripako, Makuna, Nukak, Piratapuyo, Pisamira, Siriano, Taiwano, Tariano, Tatuyo, Tucano, Tuyuka, Wanano, Yuruti
Vichada	Kurripako, Piapoco, Piaroa, Puinave, Sáliba, Sikuane
<b>Centroccidental</b>	
Caldas	Cañamomo, Embera, Embera Chamí, Embera Katio
Risaralda	Embera, Embera Chamí
Tolima	Coyaima, Nasa
<b>Suroccidental</b>	
Cauca	Coconuco, Embera, Eperara Siapidara, Guambiano, Guanaca, Inga, Nasa, Totoró, Yanacona
Nariño	Awa, Embera, Eperara Siapidara, Inga, Kofán, Pasto
Putumayo	Awa, Coreguaje, Embera, Embera Katio, Inga, Kamëntsa, Kofán, Nasa, Siona, Uitoto

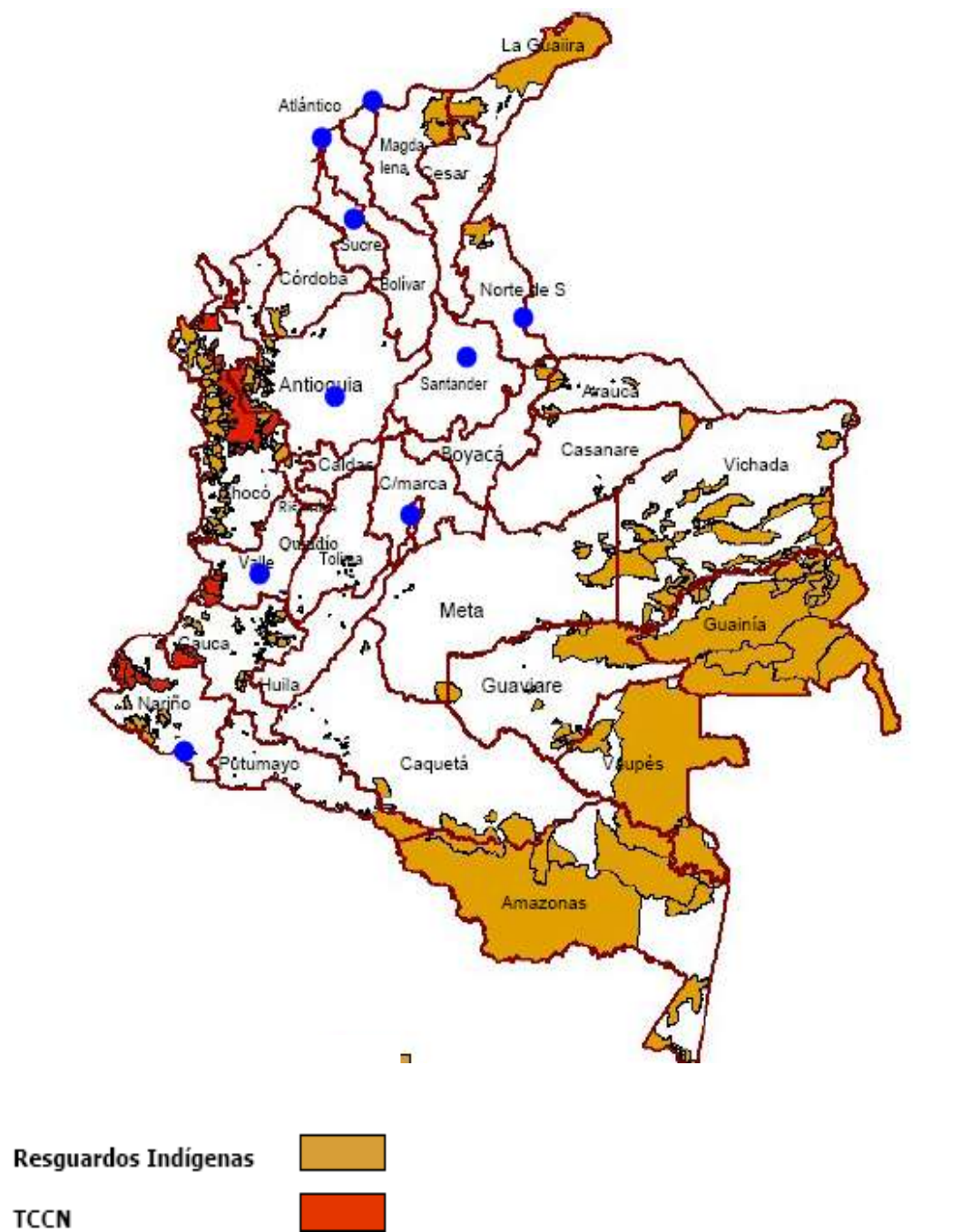


Figura 8. Mapa de Resguardos Indígenas, Territorios Colectivos de Comunidades Negras (Tccn) (61)

### **1.3.3 Aplicaciones Clínicas del Gen CYP2C19**

Después de más de 50 años de investigaciones, los esfuerzos de la farmacogenética han cristalizado en varias conclusiones relacionadas, determinando factores farmacocinéticos y farmacodinámicos de la respuesta al tratamiento. Ese conocimiento puede ser utilizado para predecir los resultados clínicos y las reacciones adversas. Actualmente las aplicaciones clínicas incluyen métodos rápidos para la caracterización del estado metabólico que se utiliza en los ensayos clínicos para la identificación de las personas susceptibles a los efectos secundarios. Esta práctica se extendió a los laboratorios clínicos para evitar reacciones tóxicas a los tratamientos específicos.

Los métodos de la Farmacogenética para la predicción de la respuesta clínica a los fármacos antipsicóticos clozapina, risperidona, olanzapina y haloperidol se espera que esté disponible para el uso clínico en el próximo decenio. Sin embargo, aún se espera mucho de la gran cantidad de información producida por la investigación genética farmacológica. Las estrategias Farmacogenómicas, incluidos los estudios funcionales a gran escala en áreas del cerebro relacionadas con la etiología de los trastornos mentales, aumentará el conocimiento sobre los mecanismos terapéuticos e identificara nuevos objetivos.

Los avances Farmacogenómicos se utilizarán para la elaboración de drogas más específicas y seguras para la adecuada prescripción, de acuerdo a la susceptibilidad genética del paciente. Las investigaciones en la Farmacogenética y farmacogenómica tienen el potencial de transformar el tratamiento psiquiátrico en las próximas décadas **(68)**.

Actualmente se están realizando investigaciones en el campo de la psiquiatría sobre variantes Alélicas de los receptores dopaminérgicos y serotoninérgicos, que se han asociado con resultados clínicos y eventos adversos, tales como los trastornos del movimiento. La deficiencia de enzimas metabólicas se ha relacionado con las drogas y con la acumulación de eventos tóxicos. La información proveniente de estas investigaciones ayudará a diseñar medicamentos más seguros y eficaces. Sin embargo, el campo está avanzando rápidamente hacia un nuevo objetivo: la aplicación de la farmacogenética clínica como recurso para la predicción de los resultados del tratamiento. Los primeros estudios en esta dirección han demostrado la viabilidad de utilizar la información genética para la predicción de la respuesta a los fármacos antipsicóticos y al tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Las nuevas estrategias en la investigación de los genes específicos relacionados con los síntomas y los efectos secundarios, han producido resultados alentadores que pueden contribuir a la mejora de los niveles y la exactitud de las predicciones **(69)**.



En la práctica clínica, un fármaco se emplea con frecuencia en combinación con una o más drogas, en lugar de un único régimen, por lo que los proveedores de atención médica consideran necesario tener en cuenta la interacción cuidadosa de las drogas. Es de gran importancia conocer la interacción de las drogas y el metabolismo de los medicamentos dependientes del CYP porque para los proveedores de atención médica sería mas efectivo y asertivo el tratamiento para cada individuo. En la actualidad se realizan estudios en el Japón para identificar las isoenzimas CYP asociadas al tratamiento interindividual y recetar con base en el conocimiento de la carta genética **(70)**.

Las variaciones genómicas nopioceptivas que influyen en la sensibilidad y la susceptibilidad a las condiciones del dolor, así como la respuestas a la farmacoterapia del dolor, son objeto de investigación. Las enzimas metabolizadoras de drogas representan un importante objetivo de las investigaciones en curso, a fin de determinar las asociaciones entre el perfil genético de una persona y la respuesta farmacogenética. Los polimorfismos del citocromo P 450 influyen en la eficacia analgésica de la codeína, el tramadol y de los antidepresivos tricíclicos (CYP2D6). Los niveles sanguíneos de los fármacos antiinflamatorios no esteroides (AINE) son dependientes de la actividad del gen CYP2C9, mientras que los receptores de opiáceos se analizan con respecto a las diferencias en la analgesia mediada por opioide y los efectos secundarios **(71)**.

### 1.3.4 Amplichip

El laboratorio Roche fabricó un amplichip del CYP 450 aprobado por la FDA. Se utilizó la tecnología de Microarray para analizar los genotipos de los citocromos CYP2D6 y CYP2C19 provenientes del ADN genómico extraído de sangre total de los pacientes. El chip es del tamaño de la uña del pulgar, hecho de vidrio, y contiene 15000 fragmentos cortos de ADN (oligonucleótidos) debidamente organizados en representación de 31 variantes genéticas de las enzimas de estos dos genes. Para el CYP2C19, los genotipos identificados por el amplichip incluyen PM y RM. En la siguiente tabla se indica el fenotipo resultante de las enzimas codificadas por dos alelos de CYP2C19. Cada alelo tiene tres posibles enzimas que pueden expresarse (72).

Este proceso se realiza automáticamente; la **micromatriz de ADN** también se conoce como **genechip** o **biochip** y se utiliza para monitorear el nivel de expresión de miles de genes de manera simultánea.

Generalmente, luego del procesamiento de la muestra (que, entre otros pasos, marca las posibles cadenas complementarias de las que están adheridas al *chip* con moléculas fluorescentes) y su puesta en contacto con el *chip*, un aparato mide la fluorescencia en cada punto de la matriz para determinar los puntos donde existió hibridización.

Un tipo particular de *ADNchip* es utilizado para identificar las variaciones genéticas en individuos o en poblaciones. En este caso, son utilizadas para identificar SNPs responsables de variaciones genéticas, matrices a las cuales se adhieren cadenas cortas de oligonucleótidos (Micromatriz de SNP).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo General**

Estudiar la distribución de los principales alelos del gen CYP2C19 y caracterizar el tipo de metabolizador presente en la en la población Caribe Colombiana.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Definir el polimorfismo presente en los alelos CYP2C19\*1, CYP2C19\*2 y CYP2C19\*3 del gen CYP2C19 en una muestra de los grupos mestizos, afrodescendientes e indígenas, representativos de la población caribe Colombiana.
- Determinar las frecuencias alélicas en los alelos investigados, y genotípicas del gen CYP2C19.
- Caracterizar los tipos de metabolizadores presentes en la población Caribe colombiana.

### **3. JUSTIFICACION**

Los tratamientos con fármacos pueden presentar en algunos pacientes efectos adversos, atribuibles a una variedad de factores y circunstancias, dentro de los cuales se reconoce como uno de los más importantes, la variabilidad genética. En el caso de la respuesta a los medicamentos, la variabilidad esta asociada al polimorfismo de ciertos genes como el CYP2C19, que codifica enzimas involucradas en el metabolismo de los fármacos.

La presencia de determinados alelos del gen CYP2C19, define a los individuos (y a los grupos étnicos) en relación con el metabolismo de los fármacos, como metabolizadores normales, rápidos o lentos (pobres) según el caso.

En Colombia y particularmente en la costa Caribe los diferentes grupos étnicos, no obstante su estrecha convivencia, conservan su acervo genético cuasi-específico, característica que posibilita entre otros, conocer, mediante estudios farmacogenéticos, como el contenido en este informe, el polimorfismo del gen CYP2C19, determinar las frecuencias alélicas y caracterizar los tipos de metabolizadores presentes en la población de la región.

El conocimiento del polimorfismo de los alelos CYP2C19\*1, CYP2C19\*2 y CYP2C19\*3 del gen CYP2C19, permite caracterizar respecto a estos, el estado metabólico de la población del Caribe colombiano, y de acuerdo con este, proponer formulaciones ajustadas a los diferentes patrones metabolizadores.

Los resultados del presente estudio además de contribuir al conocimiento de la farmacogenética de la región y del país, pueden ser un punto de partida para la selección de medicamentos a nivel individual o de etnia, para definir la dosis necesaria para cada individuo de acuerdo a su perfil genético determinado por los polimorfismos de los genes CYP.

## **4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Es de conocimiento que los organismos responden en forma diferente a los tratamientos farmacológicos por diferentes factores, entre otros los atribuidos a las diferencias genéticas. Las enzimas involucradas en el metabolismo de los fármacos presentan niveles variables de actividad debido a los polimorfismos de los genes CYP.

Las investigaciones han demostrado que el gen CYP2C19 está relacionado con el metabolismo de una gran variedad de agentes terapéuticos y su polimorfismo guarda relación con la toxicidad de algunos medicamentos en ciertos individuos.

En Colombia, particularmente en la costa Caribe no existen estudios dirigidos al conocimiento de la farmacogenética de sus diferentes grupos étnicos, por lo que la formulación se hace bajo el concepto de la dosis estándar, con los posibles riesgos que esta conlleva.

Teniendo en cuenta la problemática antes descrita, el presente trabajo se propuso contribuir a dar respuesta al siguiente interrogante:

¿Con que frecuencia están presentes en los grupos étnicos mestizo, afrocolombiano e indígena del Caribe Colombiano, los alelos CYP2C19\*1, CYP2C19\*2 y CYP2C19\*3 del gen CYP2C19, y que tipo de metabolizador determinan?

Tipo de estudio: Se utilizará un diseño descriptivo y comparativo entre la población a estudiar y las reportadas en la literatura.



## **5. MATERIAL Y MÉTODO**

### **5.1 Hipótesis**

- H1: Presencia de polimorfismo específico del gen CYP2C19 en los grupos étnicos: mestizo, afrodescendiente e indígena de la población del Caribe colombiano.
- H0: Ausencia de Polimorfismo específico del CYP2C19 en la población Caribe colombiana, conformada por los grupos étnicos: Mestizos, Afrodescendiente e indígena.

### **5.2 Población de Referencia**

La población a estudiar de la región Caribe colombiana está formada por tres grupos étnicos: mestizos, afrodescendientes e indígenas. Se tuvo en cuenta para la selección de las muestras los componentes fenotípicos de los individuos y en el caso de los afrodescendientes e indígenas su historia ancestral, ubicación geográfica y apellidos propios del respectivo grupo

étnico. El análisis comparativo se realizó con los resultados expuestos en las bases de datos (<http://www.imm.ki.se/CYPalleles>).

El grupo mestizo, estuvo conformado por voluntarios sanos tomados de la población general de Barranquilla (n= 200).

El grupo afrodescendientes lo integraron voluntarios sanos con fenotipo característico y perteneciente a un asentamiento Afrodescendiente, (Palenque de San Basilio), del departamento de Bolívar (n=100).

El grupo indígena, lo integraron voluntarios sanos del grupo Arhuaco, etnia Wiwa pertenecientes a la región de Nabusimake (Sierra Nevada de Santa Marta) (n=55).

### **5.3 Variables del Estudio**

Las variables que se tomaron en cuenta fueron:

- Sexo: Femenino y Masculino.
- Edad: (Rango entre 10 para la población indígena se tomaron edades desde los 10 hasta los 60 años ) Para las otras dos poblaciones se tuvieron en cuenta individuos con edades entre 18 y 60 años.
- Fenotipos característicos de las poblaciones afrodescendientes e indígenas.



## **5.4 Metodología**

### **5.4.1 Genotipificación del Gen Citocromo P450 2C19.**

#### **Extracción del ADN**

Inicialmente, se tomó una muestra de sangre periférica (5ml), previo consentimiento informado, la cual fue extraída de manera estandarizada, con EDTA y adecuado manejo antiséptico. El ADN genómico se obtuvo mediante sistema de buffers a través del Kit comercial Ultra clean DNA blood Isolation Kit, MoBio laboratorios y siguiendo las instrucciones recomendadas. El ADN genómico obtenido, fue llevado a concentración (30-100 ng) y guardado en nevera (-70°C) hasta su uso en la PCR.

### **5.4.2 Amplificación de los alelos CYP2C19 mediante PCR.**

El gen CYP2C19 posee tres alelos principales: CYP2C19\*1, CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, dependientes del polimorfismo en los exones 4 (G636A) y 5 (G681A) **(8)**. Para identificar los diferentes alelos, se utilizó el método de reacción en cadena de la polimerasa PCR con un juego de pares de primers confrontados PCR-CTPP **(73)**. Esta técnica originó una serie de bandas en la siguiente forma **(Tabla 7)**:

Los primers para CYP2C19 **G681A** y **G636A** fueron:

**Tabla 7. Tipos de Bandas, posiciones y alelos del CYP2C19**

<b>BANDA</b>	<b>POSICIÓN</b>	<b>ALELO</b>
Una banda de 131 pb	681G	(Alelo *1)
Una banda de 105 pb	681A	(Alelo *2)
Una banda de común 191 pb	681	Alelo *1 y alelo *2
Una banda de 377 pb	636G	(Alelo *1)
Una banda de 255 pb	636A	(Alelo *3)
Una banda común de 597 pb	636	Alelo *1 y Alelo *3

**Tabla 8. Cebadores utilizados en la Técnica de PCR-CTPP para el CYP2C19**

<b>DIRECCIÓN</b>	<b>SECUENCIA DE LOS PRIMERS</b>
*2F1	5' AGAGCTTGGCATATTGTATCT 3'
*2R1	5' TAAGTAATTTGTTATGGGTTCCC 3'
*2F2	5' CCACTATCATTGATTATTTCCCA 3'
2R2	5' TCGATTCTTGGTGTTCCTTTTAC 3'
*3F1	5' AACCAGCTAGGCTGTAATTGT 3'
*3R1	5' CTTGGCCTTACCTGGATC 3'
*3F2	5' ATTGTAAGCACCCCCTGA 3'
3R2	5' CACTGATCAGGGAGCTAATG 3'

Las bases nucleotídicas subrayadas indican el polimorfismo de cambio único.

La mezcla para la reacción de PCR para un volumen final de 25 ul fue

<b>REACTIVOS</b>	<b>CANTIDADES</b>
ADN Genómico	30-100 ng
dNTPS	0.18mM
Primers	12.5 pmoles
Taq Polimerasa	0,5 unidades
Buffer 10X	2,5 ul
MgCl <sup>2</sup>	0,75mM

Las condiciones de amplificación en un equipo Cyclor, Biorad fueron las siguientes desnaturalizaciones a una temperatura inicial de 95° C durante 10 Minutos, posteriormente siguieron 30 ciclos de:

- 95° C x 1 min. de desnaturalización.
- 59° C x 1 min de hibridación para G681A y 58° C x 1 min de hibridación para G636A.
- 72°C x 1 min de extensión final.

Se realizaron controles internos de las pruebas así:

El fragmento de DNA fue amplificado por iniciadores alelo específico (PCR-CTPP) para las posiciones **G681A** y **G636A** en el exón 4 y 5 del gen. La presencia de bandas indico que se llevó a cabo la reacción. Cuando esto no ocurrió hubo inhibición de la amplificación.

Con el objeto de evitar los falsos positivos se hicieron controles por varias vías: se manejaron juegos de micropipetas con usos específicos; se utilizaron puntas de micropipetas con filtros antiaerosol; se descontaminaron los materiales que tuvieron contacto con el producto amplificado en una cámara de luz ultravioleta.

### 5.4.3 Análisis e interpretación de los productos de la PCR

Los productos de la amplificación fueron analizados sobre gel de agarosa al 2% coloreados con bromuro de etidio y observados a 302 nm UV para hacerlos visibles y luego fotografiados, con el fin de tener un archivo gráfico del trabajo realizado. Se utilizaron marcadores de peso molecular de 100 bp de la casa comercial Bioline y de 50 pb. de la casa comercial a Fermentas (Figura 9)

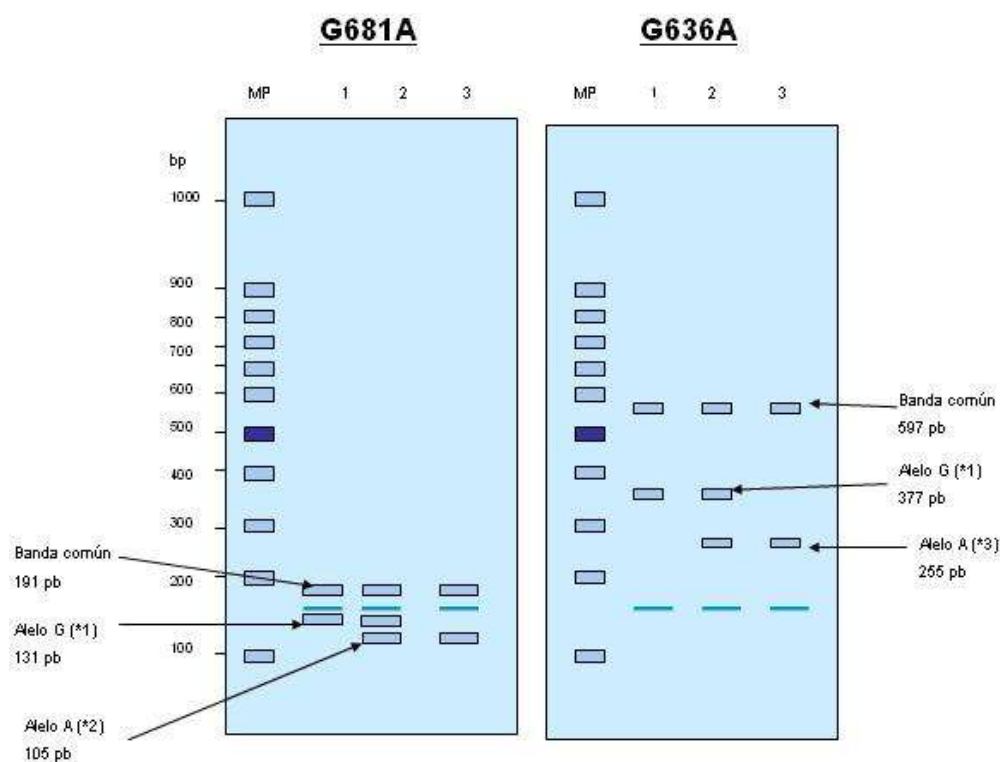


Figura 9. Esquema de productos de la PCR observados en el gel de agarosa (73)

#### **5.4.4 Análisis estadístico de los resultados.**

Para determinar las frecuencias alélicas y genotípicas y la ausencia de discrepancias entre las frecuencias anteriores (equilibrio de Hardy-Weinberg), con un intervalo de confianza del 95%, se utilizó el software Popgene versión 1.31.



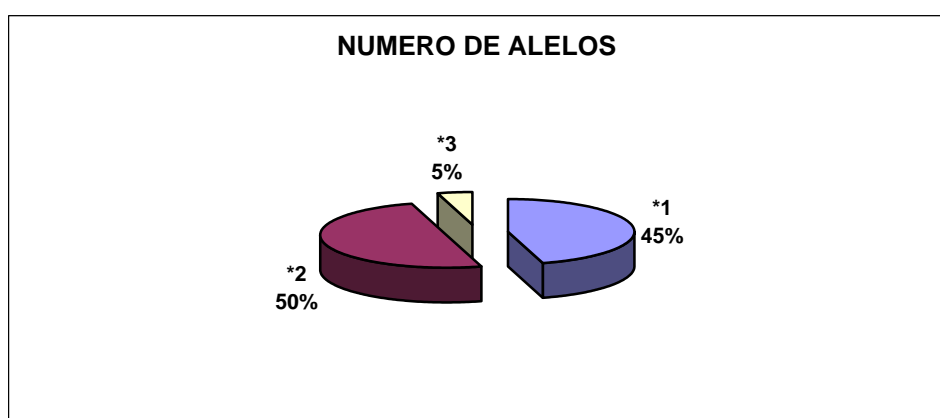
## 6 RESULTADOS

### 6.1 Población Indígena

En la población Indígena (Etnia Wiwa) de la región Caribe colombiana se estudió la presencia de los alelos CYP2C19\*1, \*2, \*3 en 55 individuos sanos no relacionados que se encontraban en un rango de edad entre 10 y 60 años. La frecuencia del alelo nativo CYP2C19\*1 fue de 45 %; el alelo no funcional CYP2C19\*2 se encontró en un (50%) y menos frecuente fue CYP2C19\*3 con 5%. Para los genotipos encontrados, el 91% fue heterocigoto con el alelo no funcional CYP2C19\*2 (\*1/\*2), seguido de 9% para el genotipo (\*2/\*3). Estuvieron ausentes los genotipos homocigoto para el alelo nativo CYP2C19\*1, (\*1/\*1), heterocigoto para el alelo no funcional CYP2C19\*3 (\*1/\*3) y homocigoto para los alelos no funcionales (\*2/\*2) y (\*3/\*3) **(Tabla 9) (Anexo 1 y 2)**. Además, en la población estudiada se encontraron solo dos fenotipos como Intermedio Metabolizador (IM) y Pobre Metabolizador (PM) con una frecuencia de 91% y 5% respectivamente. La distribución del genotipo para el CYP2C19 no estuvo en equilibrio de Hardy-Weinberg (Chi= 54.00 df=3; p=0.000). **(Tabla 10)**

**Tabla 9. Frecuencia Alélica del CYP2C19 en población Indígena de la Región Caribe Colombiana (n=55). CI=Intervalo de Confianza**

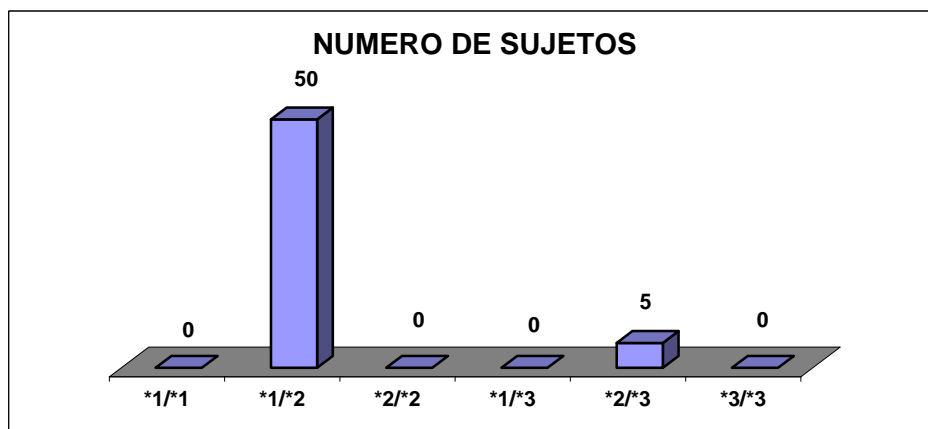
ALELOS / CYP2C19	NUMEROS DE ALELOS	FRECUENCIA (%) (95%CI)
*1	50	45 ( 32 - 59 )
*2	55	50 ( 37 - 63 )
*3	5	5 ( -1 - 10 )



**Figura 10. Número de Alelos del CYP2C19 en población Indígena de la Región Caribe Colombiana (n=55)**

**Tabla 10. Frecuencia Genotípica del CYP2C19 en población Indígena de la Región Caribe Colombiana (n=55). CI=Intervalo de Confianza**

GENOTIPOS / CYP2C19	NUMERO DE SUJETOS	FRECUENCIA (%) (95%CI)
*1/*1	0	- ( - - - )
*1/*2	50	91 ( 83 - 99 )
*2/*2	0	- ( - - - )
*1/*3	0	- ( - - - )
*2/*3	5	9 ( 1 - 17 )
*3/*3	0	- ( - - - )



**Figura 11. Número de Sujetos por Genotipo del CYP2C19 en población Indígena de la Región Caribe Colombiana (n=55)**

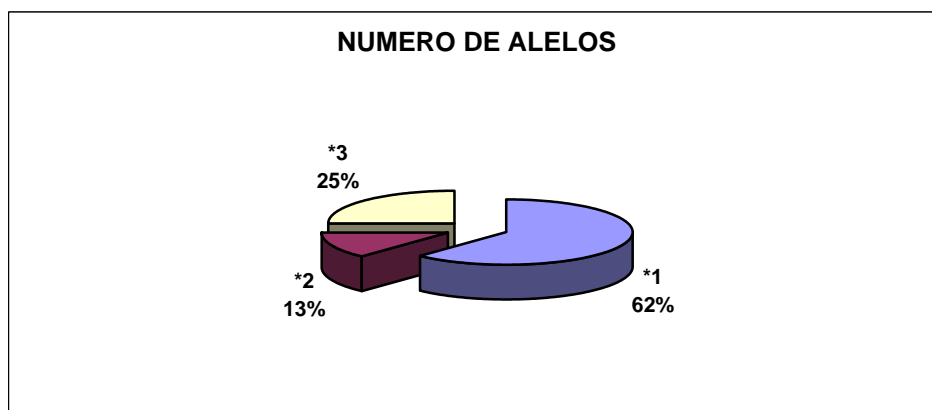
## **6.2 Población Afrodescendiente**

En la población afrodescendiente de la región Caribe colombiana se indaga la presencia de los alelos en estudio CYP2C19\*1, CYP2C19\*2 Y CYP2C19\*3, en 100 individuos sanos no relacionados que se encontraban en un rango de edad entre 18 y 50 años. La frecuencia del alelo nativo CYP2C19\*1 fue 62 % seguido por el alelo no funcional CYP2C19\*3 con 5% y CYP2C19\*2 con 13%. Entre los genotipos encontrados, el 32% fueron homocigotos para el alelo CYP2C19\*1, (\*1/\*1), 18% heterocigotos con el alelo no funcional CYP2C19\*2 (\*1/\*2) y 42% para el alelo no funcional CYP2C19\*3 (\*1/\*3). Además, 8% de los individuos fueron heterocigotos para los alelos no funcionales (\*2/\*3), estando ausentes en la muestra analizada los genotipos CYP2C19 (\*2/\*2) y CYP2C19 (\*3/\*3). **(Tabla 12) (Anexo 3 y 4)**

En la población estudiada se encontraron los tres fenotipos clásicos, como son Rápido Metabolizador (RM), Metabolizador Intermedio (IM) y Pobre Metabolizador (PM) con frecuencias de 32%, 60%, y 8% respectivamente. La distribución del genotipo para el CYP2C19 no estuvo en equilibrio de Hardy-Weinberg ( $\chi^2 = 13.135$ ;  $df=3$ ;  $p=0.004$ ).

**Tabla 11. Frecuencia Alélica del CYP2C19 en Afrodescendientes de la Región Caribe Colombiana (n=100). CI=Intervalo de Confianza**

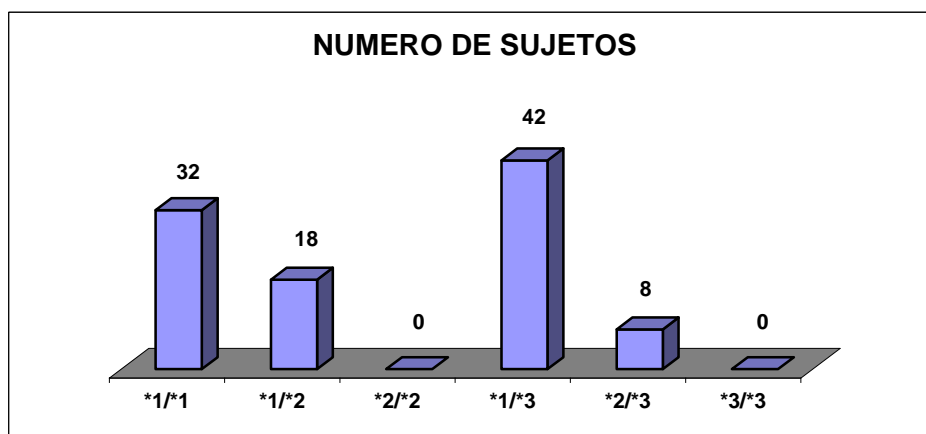
ALELOS / CYP2C19	NUMERO DE ALELOS	FRECUENCIA (%) (95%CI)
*1	124	62 ( 52 - 72 )
*2	26	13 ( 6 - 18 )
*3	50	25 ( 17 - 32 )



**Figura 12. Número de Alelos del CYP2C19 en Afrodescendientes de la Región Caribe Colombiana (n=100)**

**Tabla 12. Frecuencia Genotípicas del CYP2C19 en Afrodescendientes de la Región Caribe Colombiana (n=100). CI=Intervalo de Confianza**

GENOTIPOS / CYP2C19	NUMERO DE SUJETOS	FRECUENCIA (%) (95%CI)
*1/*1	32	32 ( 23 - 41 )
*1/*2	18	18 ( 10 - 26 )
*2/*2	0	- ( - - - )
*1/*3	42	42 ( 32 - 52 )
*2/*3	8	8 ( 3 - 13 )
*3/*3	0	- ( - - - )



**Figura 13. Número de Sujetos por Genotipo del CYP2C19 en Afrodescendientes de la Región Caribe Colombiana (n=100)**

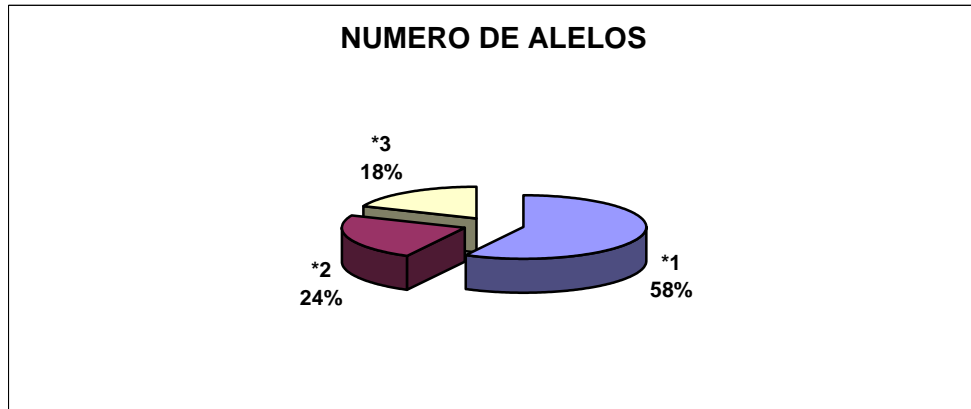
### 6.3 Población Mestiza

En la población mestiza de la región caribe Colombiana se estudió la presencia de los alelos CYP2C19\*1, \*2, \*3 en 146 individuos sanos no relacionados que se encontraban en un rango de edad entre 18 y 60 años. La frecuencia del alelo nativo CYP2C19\*1 fue 58% seguido por los alelos no funcionales CYP2C19\*2 con 24% y CYP2C19\*3 con 18%. **(Tabla 13)**

Entre los genotipos encontrados, el 32% correspondió homocigotos para el alelo CYP2C19\*1, (\*1/\*1), 28% heterocigotos con el alelo no funcional CYP2C19\*2 (\*1/\*2) y 23% para el alelo no funcional CYP2C19\*3 (\*1/\*3). El 12% de los individuos fueron heterocigotos para los alelos no funcionales (\*2/\*3), el 3% homocigotos para el genotipo CYP2C19 (\*2/\*2); 1% fueron homocigotos para el genotipo CYP2C19 (\*3/\*3), donde solo un individuo tuvo este genotipo para alelos nulos, como muestra la **Tabla 14 (Anexo 5 y 6)**. En la población estudiada se encontraron los tres fenotipos clásicos, como son Rápido Metabolizador (RM), Intermedio Metabolizador (IM) y Pobre Metabolizador (PM) con frecuencias de 32%, 28%, 23%, 12% 3% Y 1% respectivamente. La distribución del genotipo para el CYP2C19 estuvo en equilibrio de Hardy-Weinberg ( $\chi^2 = 6.70$ ;  $df=3$ ;  $p=0.042$ ).

**Tabla 13. Frecuencia Alélicas del CYP2C19 en población Mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=146). CI=Intervalo de Confianza**

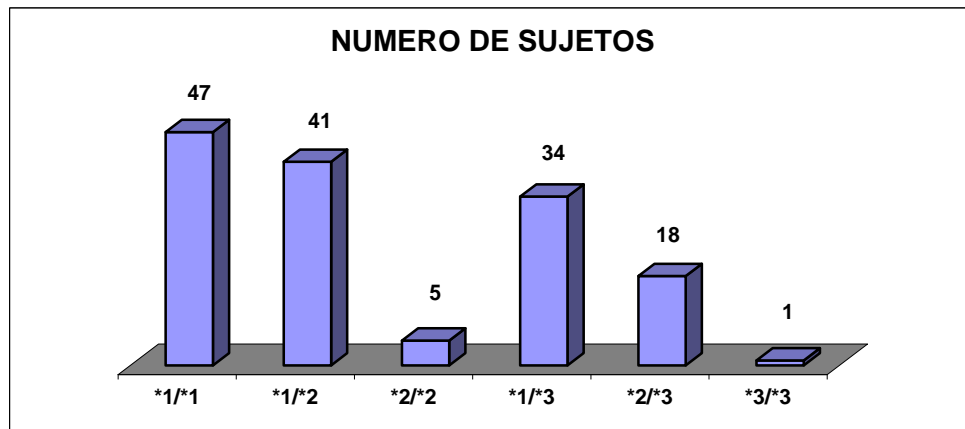
ALELOS / CYP2C19	NUMERO DE ALELOS	FRECUENCIA (%) (95%CI)
*1	169	58 ( 50 - 66 )
*2	69	24 ( 17 - 31 )
*3	54	18 ( 12 - 26 )



**Figura 14. Número de Alelos del CYP2C19 en población Mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=146)**

**Tabla 14. Frecuencia Genotípica del CYP2C19 en población Mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=146). CI=Intervalo de Confianza**

GENOTIPOS / CYP2C19	NUMERO DE SUJETOS	FRECUENCIA (%) (95%CI)
*1/*1	47	32 ( 25 - 40 )
*1/*2	41	28 ( 21 - 35 )
*2/*2	5	3 ( 0 - 6 )
*1/*3	34	23 ( 16 - 30 )
*2/*3	18	12 ( 7 - 18 )
*3/*3	1	1 ( -1 - 3 )



**Figura 15. Número de Sujetos por Genotipo del CYP2C19 en población Mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=146)**

## **6.4 Comparación de las tres poblaciones del Caribe Colombiano**

Las distribuciones tanto genotípicas y alélicas de la población Caribe muestran que la presencia del alelo \*1 en la población Afrodescendiente fue de 62%, también fue frecuente en Mestizos con 58% e indígenas con 45%, mostrando alta frecuencia comparado con los alelos \*2 y \*3, ya que el alelo \*1 es de tipo salvaje, por lo que es frecuente encontrarlo en la mayoría de la población, indicando una composición aminoacídica normal del CYP2C19 y por lo tanto una expresión normal de la proteína.



El alelo \*2 se presentó con mayor frecuencia en las población Indígena con 50% seguido de los mestizos con 24% y por último Afrodescendiente con 13%. El alelo \*3 presento menor frecuencia respecto al \*2 en mestizos con 18% y en indígenas con 5%. En cambio en afrodescendientes el alelo\*3 con 25% supero al \*2 en esta población. La presencia de estos dos alelos es el producto del polimorfismo, generando mutaciones que alteran la cadena polipeptídica, disminuyendo la capacidad metabolizadora de la enzima.

Los Genotipos encontrados en las tres poblaciones fueron \*1/\*1, \*1/\*2, \*1/\*3, \*2/\*3, \*2/\*2 y \*3/\*3. El genotipo predominante en las tres poblaciones fue \*1/\*2 con un 36%, seguido de \*1/\*1 con 26%, y de \*1/\*3 con 25%, y frecuencias mas bajas para los genotipos 2/\*3 y \*3/\*3 con 10% y 0,3% respectivamente. **(Figura 17)**

La combinación de estos alelos produjo genotipos y fenotipos que al expresarse determinaron el tipo de metabolizador para cada individuo. La frecuencia más alta se encontró en la población indígena con 91% correspondiente a metabolizadores intermedios o normales, seguido por los Afrodescendientes con 60% y 51% en los mestizos. Este fenotipo tiene una expresión normal de la proteína.

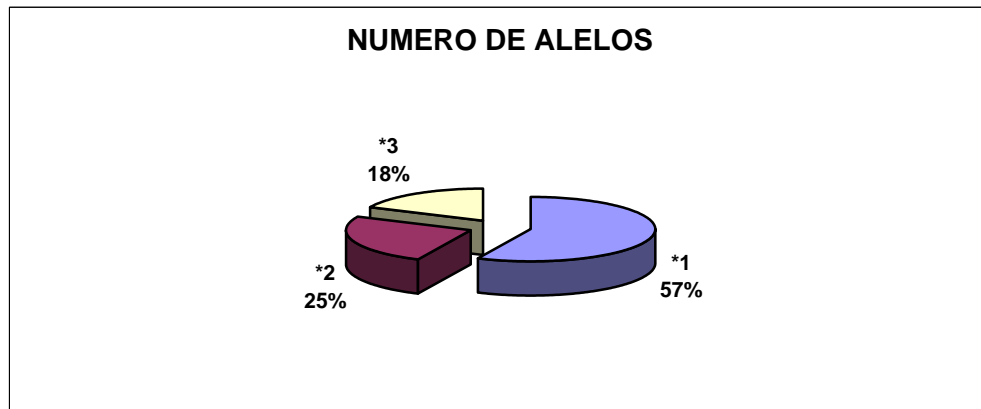
Para el fenotipo de rápido metabolizador se encontró que tanto la población mestiza como Afrodescendiente comparten frecuencias iguales con 32%, siendo revelante su impacto en la prescripción de medicamentos

metabolizados por el gen CYP2C19, pues sugiere una sobre expresión de la actividad catalítica de la proteína. En la población indígena no se hallaron genotipos que expresaran este fenotipo.

En el fenotipo pobre metabolizador los mestizos presentaron frecuencia alta (16%) en comparación con los Afrodescendientes (8%) y los indígenas (5%), con implicaciones negativas en la clínica, debido a que los individuos pobres metabolizadores realizan un proceso de biotransformación más lento, estando expuestos a intoxicaciones e incluso a la muerte con una prescripción inadecuada. **(Tabla 15 y 16)**

**Tabla 15. Frecuencia Alélica del CYP2C19 en las tres poblaciones Afrodescendiente, Indígena y mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=100, 55,146). CI=Intervalo de Confianza**

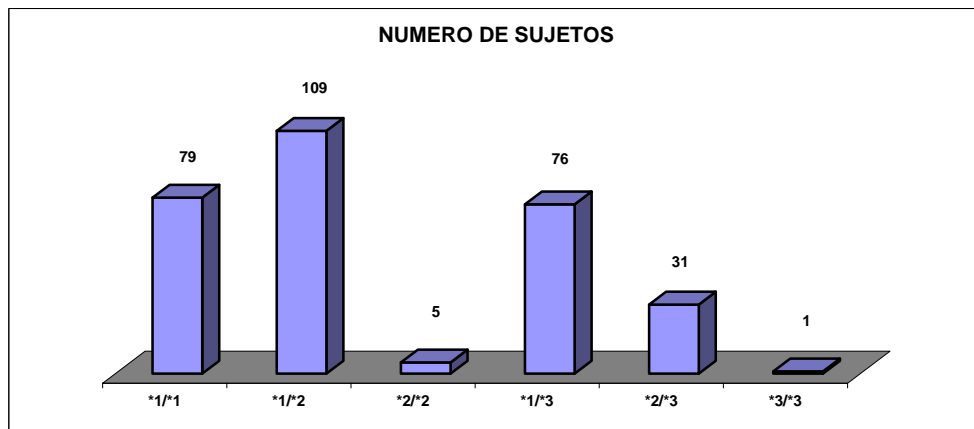
<b>ALELOS / CYP2C19</b>	<b>NUMERO DE ALELOS</b>	<b>FRECUENCIA (%) (95%CI)</b>
*1	343	57 ( 51 - 63 )
*2	150	25 ( 20 - 30 )
*3	109	18 ( 14 - 22 )



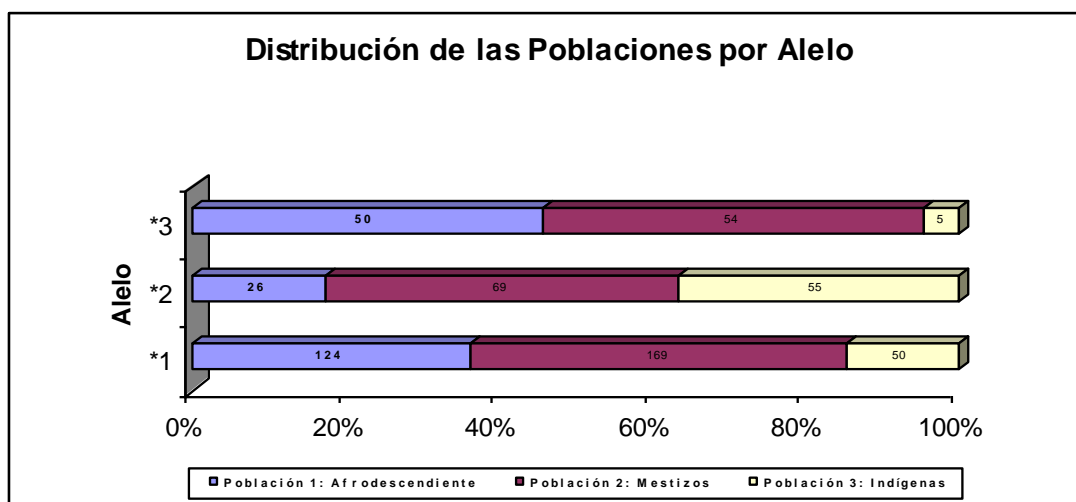
**Figura 16. Número de Alelos del CYP2C19 en las tres poblaciones Afrodescendiente, Indígena y Mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=100, 55,146)**

**Tabla 16. Frecuencia Genotípica del CYP2C19 en las tres poblaciones Afrodescendiente, Indígena y mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=100, 55,146). CI=Intervalo de Confianza**

GENOTIPOS / CYP2C19	NUMERO DE SUJETOS	FRECUENCIA (%) (95%CI)
*1/*1	79	26,2 ( 21,3 - 31,2 )
*1/*2	109	36,2 ( 30,8 - 41,6 )
*2/*2	5	1,7 ( 0,2 - 3,1 )
*1/*3	76	25,2 ( 20,3 - 30,2 )
*2/*3	31	10,3 ( 6,9 - 13,7 )
*3/*3	1	0,3 ( -0,3 - 1,0 )



**Figura 17. Número de Sujetos por Genotipo del CYP2C19 en las tres poblaciones Afrodescendiente, Indígena y Mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=100, 55,146)**



**Figura 18. Distribución de las tres poblaciones Afrodescendiente, Indígena y Mestiza de la Región Caribe Colombiana por Alelos del CYP2C19 (n=100, 55,146)**

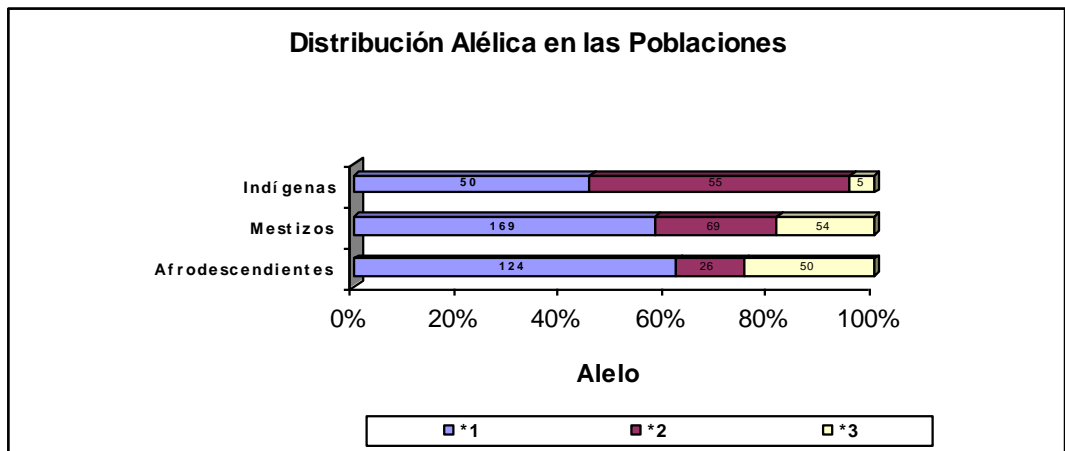


Figura 19. Distribución de Alelos del CYP2C19 en las tres poblaciones Afrodescendiente, Indígena y Mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=100, 55,146)

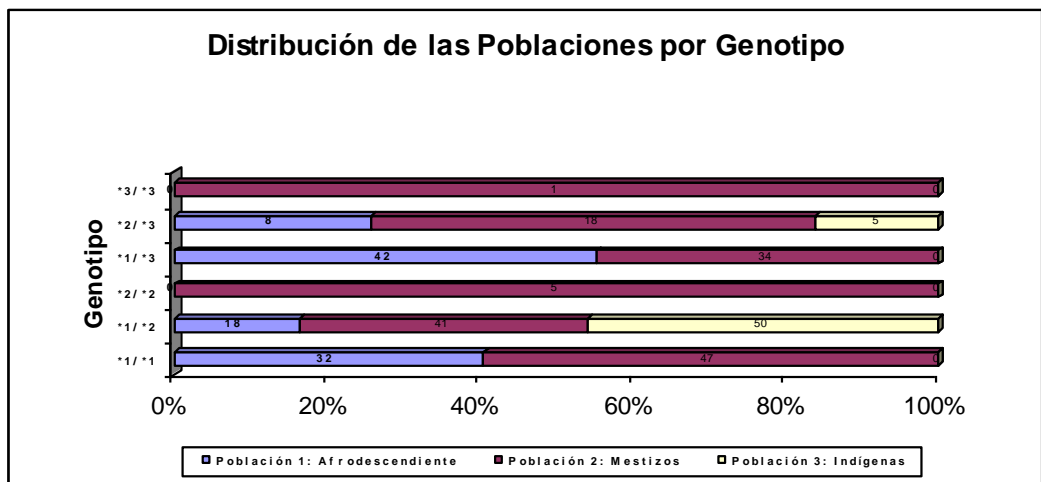
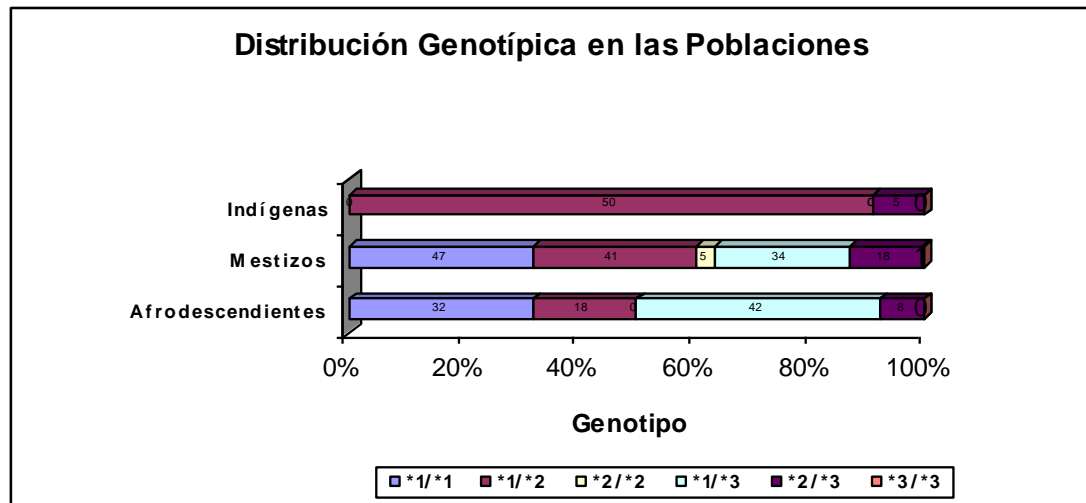


Figura 20. Distribución de las tres poblaciones Afrodescendiente, Indígena y Mestiza de la Región Caribe Colombiana por Genotipos del CYP2C19 (n=100, 55,146)



**Figura 21. Distribución de Genotipos del CYP2C19 en las tres poblaciones Afrodescendiente, Indígena y Mestiza de la Región Caribe Colombiana (n=100, 55,146)**

## **7 DISCUSION**

### **7.1 Polimorfismo del CYP2C19 EN LA POBLACIÓN CARIBE COLOMBIANA**

Los resultados del estudio molecular del gen CYP2C19 en los tres grupos étnicos característicos de la población Caribe colombiana, muestran en general una distribución cuasi-específica de cada uno de los diferentes grupos analizados (afrodescendientes 62%, mestizos 58% e indígenas 45%). En este sentido, uno de los hallazgos importantes es la presencia de una frecuencia relativamente similar en el alelo tipo salvaje en los tres grupos y una frecuencia diferencial para los alelos \*2 \*3 en los grupos indígenas y afrodescendientes.

Para el alelo CYP2C19\*1 las frecuencias 62, 58 y 45% están dentro de los valores esperados de acuerdo con la literatura revisada, pues este alelo se caracteriza por presentar valores relativamente altos en las poblaciones. Contrario a esto, la frecuencia del alelo CYP2C19\*2 en indígenas, es marcadamente alta (50%), comparada con los mestizos (24%) y afrodescendientes (13%). En forma similar, para el alelo CYP2C19\*3 en

afrodescendientes se encuentra una frecuencia alta (25%), comparada con indígenas (5 %) y más cercana a la de los mestizos (18%).

Cuando se comparan estos hallazgos con otros grupos estudiados, se aprecian algunas diferencias notables. Es el caso de los grupos Afroamericanos y Africanos reportados por Xie., et al **(54)** que muestran frecuencia similar en cuanto al alelo CYP2C19\*2 (Africanos, 17.3 % y Afroamericanos 17.9%) pero muy baja para el alelo CYP2C19\*3 (0.4%, 0.6% respectivamente). Esto nos llevaría a pensar en un posible efecto fundador para el alelo CYP2C19\*2 en los grupos afrodescendientes en Colombia en este momento, teniendo en cuenta que en mestizos del interior del país se observa una frecuencia similar en CYP2C19\*2 con ausencia del alelo CYP2C19\*3. Sin embargo, si se tiene en cuenta que la población mestiza en este estudio es de tipo Caribe y por lo tanto tiene un componente africano importante que podría estar asociado a la presencia de una frecuencia importante y similar del alelo CYP2C19\*3 en comparación con mestizos del interior del país.

El polimorfismo genético del CYP2C19 en las tres poblaciones (afrodescendiente, Indígena y Mestiza) del Caribe colombiano indica que las variantes alélicas comunes para el CYP2C19 fueron CYP2C19\*1, CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, como las informadas en la literatura para varias poblaciones con diferentes distribuciones



## 7.2 Comparación con otras Poblaciones

Un estudio de la población de Tanzania, con lengua Bantú, la misma de los ancestros de las poblaciones Africanas traídas a Colombia, muestra nuevamente una frecuencia similar (17.9%) del alelo CYP2C19\*2 pero con baja frecuencia del CYP2C19\*3 (0.6%) lo cual marca una diferencia clara en la población Colombiana analizada.

De acuerdo a los estudios reportados, el alelo CYP2C19\*3, fue informado inicialmente en población de Vanuato, y de acuerdo con los estudios de Rosemary y Adithan en el 2007 **(50)** este alelo se encuentra en mayor proporción en Japoneses (10.4%), Coreanos (12%), Vanuato (25 y 14.4%) y en menor porcentaje en Chinos (7.5%) y Filipinos (8%), lo que haría suponer un origen Oriental y/o efectos fundadores en estas poblaciones.

El polimorfismo genético del CYP2C19 en las tres poblaciones (afrodescendiente, Indígena y Mestiza) del Caribe colombiano indica que las variantes alélicas comunes para el CYP2C19 fueron CYP2C19\*1, CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, como las informadas en la literatura para varias poblaciones con diferentes distribuciones.

Diferentes estudios en diversas poblaciones como se describió anteriormente han demostrado la especificidad étnica del polimorfismo genético del CYP2C19 (**Tabla 17**).

**Tabla 17. Distribución Inter-étnica de los alelos del CYP2C19**

<b>Poblacion</b>	<b>n</b>	<b>CYP2C19*2</b>	<b>CYP2C19*3</b>	<b>Referencia</b>
Turkia	404	12	0.4	[74]
Rusia	290	11.4	0.3	[75]
Belga	121	9.1	0	[76]
Alemanes	765	13.3	0.2	[77]
Croacia	200	15.0	0	[51]
Italia	360	11.1	0	[78]
Bolivia	778	7.8	0.1	[79]
Arabia Saudi	97	15	0	[37]
Judios Israeli	140	15	1	[80]
Indios Canadienses	159	19.1	0	[81]
Vanuatu	100	57	25	[36]
Vanuatu	5538	63.3	14.4	[36]
Sur de la India	341	35	1	[82]
Norte de la India	121	30	0	[83]
Beninese	111	13.0	0	[76]
<b>Africanos</b>	922	17.3	0.4	[54]
Tanzanian	251	17.9	0.6	[84]
<b>Africa</b>	216	10	0	[57]
<b>Americanos Africanos</b>	108	25	0	[37]
Chinos Taiwaneses	118	32	5.5	[37]
Japoneses	53	23	10.4	[37]
Filipino	52	39	8	[37]
Koreanos	103	21	12	[85]
Norte- este de Thai	107	27	2	[86]

Entre las diferentes variantes alélicas en otras poblaciones, el alelo CYP2C19\*2 es el más común, con un rango de 9 a 26% en caucásicos **(51, 74,75, 76, 77, 78)** y de 20% a 35% en indios y asiáticos orientales. La frecuencia de este alelo en la población Mestiza (24%) y afrodescendiente (13%) del Caribe Colombiano estuvo dentro del rango de frecuencia de caucásicos, indios y asiáticos orientales, por el contrario en la población indígena se encontró una frecuencia alta (50%) en comparación con las poblaciones anteriores.

La presencia del alelo CYP2C19\*2 en la población judeo israelí y Saudita es del 15% **(37,80)** siendo similar a la de los caucásicos y menor que la de los indios y asiáticos orientales. En la población Afrodescendiente del Caribe Colombiano el alelo \*2 se encontró en un 13% , frecuencia cercana a la encontrada en Judíos y árabes y distanciada de la hallada en mestizos (24%) y mucho mas de indígenas (50%).

La población del Sur de la India el alelo CYP2C19\*2 tiene una frecuencia de 35% **(82)** y su frecuencia genotípica para Pobre Metabolizador es de 12.6%. En el norte, estuvo presente con una frecuencia del 30% siendo similar a la de los orientales. Con relación a la población del Caribe, los datos muestran que mestizos (24%) y afrodescendientes (13%) presentaron frecuencias inferiores a los indios del norte y sur y asiáticos orientales, en tanto que en los indígenas (50%), la frecuencia fue significativamente superior.

La incidencia del alelo CYP2C19\*2 en afroamericanos fue del 25%, que esta dentro del rango para caucásicos (9-26%) y superior a la de africanos (17.3%) **(37)**. En la población Afrodescendiente del Caribe este alelo se encontró en un 13%, frecuencia menor a la hallada en afroamericanos y africanos, contrario a lo que se podría esperar debido a que comparten ancestros y acervo genético. La frecuencia de los mestizos del Caribe (24%) está más próxima a la de los afroamericanos y africanos que a la de los afrodescendientes (13%), lo que se podría explicar porque en el mestizaje del Caribe los africanos jugaron un papel importante tanto genético como cultural.

En Japoneses la frecuencia del alelo CYP2C19\*2 está entre el 23 - 35% **(37)**, mientras que en filipinos fue del 39%. En cuanto a la población Mestiza del Caribe (24%) la frecuencia de este alelo es mas similar a la de los Japoneses, en cambio, las frecuencias de afrodescendientes e indígenas se encontraron en extremos opuestos (50% y 13% respectivamente) respecto a japoneses y filipinos.

Los indígenas nativos de Canadá tienen una frecuencia de 19,1% para el alelo CYP2C19\*2 **(81)**, esta distribución esta mas cercana a los afrodescendiente que a los indígenas del caribe (50%), lo que sugiere que los indígenas del caribe, para este alelo, tienen baja relación genética con los indígenas canadienses.

El alelo CYP2C19\*3 es relativamente raro en caucásicos, indios y africanos (0 al 2%) **(54)** y en individuos de Asia oriental se presenta en un rango del 2 al 10%; los Bolivianos presentan menor frecuencia en comparación con otras de razas caucásicas **(79)**. Este alelo esta ausente en los indígenas nativos de Canadá y en la población del sur de la India **(81,82)**. La prevalencia más alta de la variante alélicas CYP2C19\*3 según la literatura ha sido en la población de la isla Vanuatu (39.4%) **(36)**.

A diferencia de las poblaciones caucásicas, indios y africanos este alelo estuvo presente en la población Mestiza del Caribe con 18% y en afrodescendientes con 25%. Llama la atención estos valores, especialmente los referentes a afrodescendientes, de quienes se esperaría frecuencias mas próximas a la de los africanos debido a que los primeros son descendientes de los segundos. Ante estas inesperadas diferencias se podría esgrimir como argumento las diferencias en la variabilidad alélicas entre los africanos y sus descendientes afroamericanos.

En los indígenas del Caribe la frecuencia de este alelo fue del 5%, mas cercana a caucásicos, indios, africanos y asiáticos orientales. Los Mestizos presentaron 18%, valor alto comparado con indígenas (5%) y africanos (0-2%), dos de los tres ancestros del mestizaje. Este alto valor no es posible explicarlo con la información actual disponible, mediante el aporte genético

del blanco español en el mestizaje, porque los caucásicos, a los cuales se pueden asimilar los españoles, no presentan el alelo en mención.

La prevalencia del genotipo Pobre Metabolizador (PM) en chinos fue de 14%, en coreanos 16% **(85)** en japonés 11% y en filipinos 39% **(86)**. La isla de Vanuatu con 61%, presenta la población con la más alta frecuencia de pobres metabolizadores de la literatura revisada. Los resultados encontrados en el Caribe colombiano (mestizos 16%, afrodescendientes 8%, indígenas 5%) son inferiores a los anteriormente relacionados.

La presencia de variantes alélicas en las distintas poblaciones determina fenotipos donde algunos individuos, según el genotipo, son pobres metabolizadores. Independientemente de los valores de las frecuencias, las cifras indican que la mayoría de poblaciones tienen en su genoma estos polimorfismos que determinan diferencias en la eficacia de la farmacoterapia, debiendo reducir la dosis para pobres metabolizadores o aumentarla en los rápidos metabolizadores, para obtener éxito en el tratamiento terapéutico.

De acuerdo con los resultados para pobre metabolizador en la población Caribe, se puede hipotetizar que los grupos poblacionales con marcado ancestro indígena, afrodescendiente y mestizo, tendrán en este orden, tendencia creciente a un metabolismo pobre de los medicamentos utilizados para enfermedades como Carcinoma Hepato celular y otras formas de

cáncer, que puede influir en la eficacia y toxicidad de agentes quimioterapéuticos **(50)**, por lo tanto, los estudios de prevalencia de tales alelos deberían ser tenidos en cuenta para la elección de las medidas terapéuticas.

## 8. CONCLUSIONES

- En los grupos mestizos, afrodescendientes e indígenas de la población del caribe colombiano, están presentes los alelos CYP2C19\*1, CYP2C19\*2 y CYP2C19\*3 del gen CYP2C19 con frecuencias de 57%, 25% y 18% respectivamente, lo que confirma la hipótesis alterna.
- El metabolizador intermedio predominó en los tres grupos étnicos, seguido del rápido metabolizador en mestizos y afrodescendientes, estando ausente este último en indígenas.
- La frecuencia de los pobres metabolizadores encontrada en la población estudiada es similar a la informada por la literatura para la mayoría de las poblaciones.
- Las diferencias en la distribución de los alelos del gen CYP2C19 y sus genotipos en los grupos étnicos es un componente importante para el estudio de las diferencias entre individuos en la investigación en el metabolismo de las drogas.



## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Wilkinson G. Drug metabolism and Variability among patients in drugs responses. N Engl J Med 2005; (352):2211-2221.
2. Ma Mk, Woo MH, McLeod HL. Bases genéticas del metabolismo de fármacos. Am. J. Health-Syst Pharm. Ed. ESP. 2003; 2: 87-95.
3. Kashuba ADM, Bertino JS, Mechanisms of drug interactions. In; Piscitelli; SC; Rodvold KA, eds: Drug interactions in infectious disease. Totowa, NJ Human Press, 2001: 13-38.
4. Garcia B, Poblador P. Revisión de Interacciones Farmacológicas en un Hospital General. Farmacia Hospitalaria 2002; 26: 110-118
5. Frías G, Hierro S, Jiménez J, Moreno L, Ruiz R. Farmacogenómica y sus aplicaciones clínicas. Dermatologia Rev. 2007; 51(3) 99-111.
6. Hirata-Koizumi M, Saito M, Urano T, Miyake S, Hasegawa R. Improvement of package insert CYP information for prescription drugs marketed in Japan. Kokuritsu Iyaku hin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku. 2005 ;(123):12

7. Stamer U, Bayerer B, Stüber F. Genetics, pain and analgesia 2006. *Anesthetist*. 55(7):746-52.
8. Gurwitz D, Rehavi M. Pharmacogenetics: towards individualized medicine *Harefuah* 2005; 144: 711-16.
9. Goldstein J. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C subfamily. *Br J of Clin Pharmacol* 2001; 52:349- 55
10. De Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, et al. Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of(S)- mephenytoin metabolism in human. *Mol pharmacol* 1994; 46: 594-98.
11. Pfost DR, Boyce-Jacino MT, Grant DM. A SNPshot: Pharmacogenetics and the Future of Drug therapy. *Trends in Biotechnology* 2000; 18: 334-89.
12. Lamba JK, Lin YS, Schuetz EG, Thummel KE. Genetic contribution to variable human CYP3 A - mediated metabolism. *Adv Drug Deliv Rev* 2002; 54(10): 1271-94.
13. Santiago, C. Bandrés, F. Gomez-Gallego, F. Polimorfismo de Citocromo P450: papel como Marcador Biológico. *Medicina del Trabajo* 2002; 130-40.

- 14.** Nebert DW, Gonzalez FJ. P450 genes: structure, evolution and regulation. *Annu Rev Biochem* 1987; 56 :945-93.
- 15.** Werck-Reichh D, Feyereisen R. Cytochromes P450: a success story. *Genome Biol* 2001; 1: (reviews 3003):1-9
- 16.** Nelson D R, Kamataki T, Waxman DJ, Guenrinch FP, Estabrook RW, Feyereisen R, C, et al. P450 Superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature. *DNA Cell Biol* 1993; 12 (1): 1-51.
- 17.** Nelson D.R, Koymans, L. Stegemann J.J, kamataki T. Feyereisen R, Waxman DJ, et al.P450 Superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* 1996; 6(1):1-42.
- 18.** Jover R. Bases Bioquímicas de la Toxicología Clínica. Polimorfismos genéticos Humanos. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.Espana: Universidad de Valencia, 2007.
- 19.** Nebert D, Dieter M. The Evolution of Drug Metabolism. *Pharmacology* 2000; 61(3):124-35

- 20.** Omura T, Sato R. The Carbon Monoxide-binding pigment of Liver Microsomes. Evidence for its Hemoprotein Nature. *J Biol Chemes* 1964; 239(7): 1-9.
- 21.** Klingenberg M. Pigments of rat liver microsomes. *Arch Biochem Biophys* 1958; 75:376-86.
- 22.** Porter T, Coon M. Minireview Cytochrome P450 Multiplicity of isoforms, substrate, and catalytic and regulatory mechanisims. *J Biolol. Chemes* 1991; 266:13469-72.
- 23.** Lares, I. Trujillo-Jimenez, F. La farmacogenética y su importancia en la clínica. *Gac Med Mex* 2001; 137(3):227-36
- 24.** Wang H, Donley K, Keeney D, Hoffman S. Organization and evolution of the CYP 2 gene cluster on mouse chromosome 7, and comparison with the syntenic human clusters. *Environ Health Perspect* 2003; 111 (15): 1835-42.
- 25.** Hoffman S, Nelson D, Keeney D. Organization and evolution of the CYP 2 gene cluster on human chromosome 19. *Pharmacogenetics* 2001; 11:687-98.
- 24.** Werck-Reichhart D, Bak S, Paquette S. Cytochromes P450. *Am Sc Plant Biol* 2002: 1-28.

- 27.** Van der weides J, Steinjs LS. Cytochrome P450 enzyme system: genetic polymorphisms and individual clinical pharmacology. *Ann Clin Biochem* 1999; 36: 722-29
- 28.** Edeki TI, Golstein JA, De Morais SM, Hajiloo L, Butler M, Chapdelaine P, Wilkinson GR. Genetic polymorphism of S-mephenytoin 4'-hydroxylation in African-Americans. *Pharmacogenetics*. 1996 ;6 :357-60.
- 29.** Martínez C, Blanco G, García-Martín E, Agúndez JA. Farmacogenómica clínica de CYP2C8 y CYP2C9: conceptos generales y aplicación al uso de AINE. *Farm Hosp* 2006; 30: 240-48.
- 30.** García-Martín E, Martínez C, Ladero JM, Agúndez JA. Interethnic and intraethnic variability of CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms in healthy individuals. *Mol Diag Ther* 2006; 10:29-40.
- 31.** Taillon Miller P, Piernot EE, Kwok PY. Efficient approach to unique single-nucleotide polymorphism discovery. *Genome Res* 1999; 9: 499-505.
- 32.** Tribut O, Lessard Y, Reyman JM, Allain H and Bentue- Ferrer D. *Pharmacogenomics Med Sci Monit* 2002; 8:RA 152-RA63

- 33.** Wang DG, Fan JB, Siao CJ, et al. Large-scale identification, mapping and genotyping of single nucleotide polymorphisms in the human genome. Science 1998; 280: 1077-82.
- 34.** Solus JF, Arrieta BJ, Harris JR, Sexton DP, Steward JQ, McMunn C, Ihrie O, Mehall JM, Edwards TL, Dawson EP. Genetic variation in eleven phase I drug metabolism genes in an ethnically diverse population. Pharmacogenomics 2004; 5: 895-931.
- 35.** Spalvieri M, Rotenberg R. Aplicaciones del Polimorfismo de un Nucleótido y Micromatrices de ADN. Medicina 2004; 64: 533-42.
- 36.** Kaneko A, Lum JK, Yaviong L , et al. High and Variable frequencies of CYP2C19 mutations: medical consequences of poor drug individual in Vanuatu and other Pacific Islands. Pharmacogenetics 1999; 9: 581-90.
- 37.** Goldstein JA, Ishizaki T, Chiba K, et al. Frequencies of the defective CYP2C19 alleles responsible for the mephenytoin poor metabolizer phenotype in various Oriental, Caucasian, Saudi Arabian and American black populations. Pharmacogenetics 1997; 7: 59-64.
- 38.** Von Gersdorff L. SNP Detection in CYP2C19 and CYP2D6 (tesis). Copenhagen. Technical University of Denmark, 2005.

- 39.** Andersson T, Regardh CG, Lou YC, et al. Polimorphic hydroxylation of S-mephenytoin and omeprazole metabolism in Caucasian and Chinese subjects. *Pharmacogenetics* 1992; 2: 25-31.
- 40.** Alonso-Navarro H, Jiménez-Jiménez FJ, García-Agúndez JA. The role of CYP2C19 polymorphism in the development of adverse effects to drugs and the risk for diseases. *Medicina Clínica* 2006; 126(18):697-706.
- 41.** Ingelman-Sundberg M, Daly AK, Nebert DW. Nomenclature files for human cytochrome P450 alleles. Page of the Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee. Disponible en: <http://www.imm.ki.se/CYPalleles/> (consultado el 13 de junio de 2009).
- 42.** Ferguson RJ, De Morais SM, Benhamou S, Bouchardy C, Blaisdell J, Ibeanu G, et al. A new genetic defect in human CYP2C19: mutation of the initiation codon is responsible for poor metabolism of S-mephenytoin. *J pharmacol Exp Ther* 1998 ;284:35-61.
- 43.** Furuta T, Ohashi K, Kamata T, et al. Effect of genetic differences in omeprazole metabolism on cure rates for *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcer. *Ann Intern Med* 1998; 129:1027-30
- 44.** Furuta T, Ohashi K, Kosuge K, et al. CYP2C19 genotype status and effect of omeprazole on intragastric pH in humans. *Clin Pharmacol. Ther* 1999; 65: 552-61.

- 45.** Ingelman-Sunderberg M, Oscarson M, Mclellan RA. Polymorphic human cytochrome P450 enzymes: an opportunity for individualized drug treatment. *Trends. Pharmacol. Sci* 1999; 105: 767-74
- 46.** Weber WW. Populations and genetic polymorphisms. *Mol. Diagn.* 1999; 4(4):299-307.
- 47.** Ward SA, Walle T, Walle UK, et al. Propranolol metabolism is determined by both mephenytoin and debrisoquin hydroxylase-activities. *Clin Pharmacol Ther* 1989; 45:72-79.
- 48.** Ward SA, Helsby NA, Skjelbo E, et al. The activation of the biguanide antimalarial proguanil co-segregates with the mephenytoin oxidation polymorphisms - a panel study. *Br J Clin Pharmacol* 1991; 31: 689-92.
- 49.** Dahl ML. Cytochrome P450 phenotyping/genotyping in patients receiving antipsychotics: useful aid to prescribing? *Clin Pharmacokinet* 2002; 41:453-70.
- 50.** Rosemary J, Adithan C. The Pharmacogenetics of CYP2C9 and CYP2C19: Ethnic Variation and Clinical Significance. *Curr Clin Pharmacol* 2007; 2: 93-109.



**51.** Bozina N, Granic P, Lalic Z, Tramisak I, Lovric M, Stavljenic- Rukavina A. Genetic polymorphisms of cytochromes P450: CYP2C9, CYP2C19, and CYP2D6 in Croatian population. *Croat Med J* 2003; 44(4): 425-8.

**52.** Ninomiya H, Mamiya K, Matsuo S, Ieri I, Higuchi S, Tashiro N. Genetic polymorphism of the CYP2C subfamily and excessive serum phenytoin concentration with central nervous system intoxication. *Ther Drug Monit* 2000; 22(2):230-2.

**53.** Whyte C. Seryx Signature Genetics. All inclusive report. Patient PIN: UK 10358. Cambridge, 2008.

**54.** Xie HG, Kim R B, Stein CM, Wilkinson G R, Wood AJ. Genetic polymorphism of (S)-mephenytoin 4-hydroxylation in populations of African descent. *Br J Clin Pharmacol* 1999; 48 (3): 402-08.

**55.** Bolaji O, Sadare IO, Babalola CP, Ogunbona FA. Polymorphic oxidative metabolism of proguanil in a Nigerian population. *Eur J Clin Pharmacol* 2002; 58(8):543-5.

**56.** Samar HI, Hiratsuka M, Narahara K, El-Enany M, Moursi N, Salah-Eldin M, Mizugaki M. Allele and genotype frequencies of polymorphic cytochromes P450 (CYP2C9, CYP2C19, CYP2E1) and dihydropyrimidine dehydrogenase

(DPYD) in the Egyptian population .Br J Clin Pharmacol 2002; 53 (6): 596–603

**57.** Bathum L, Skjelbo, E, Mutabingwa T, Madsen H, Hørder M, Brøsen K. Phenotypes and genotypes for CYP2D6 and CYP2C19 in a Black Tanzanian population. Br J Clin Pharmacol 1999; 48 (3): 395–401.

**58.** Isaza C, Henao J, Isaza Martínez JH, Sepúlveda Arias JC, Beltrán L. Phenotype-genotype analysis of CYP2C19 in Colombian mestizo individuals. BMC Clin Pharmacol. 2007; 7: 6

**59.** Silvera – Redondo, Gomez-casado, Martinez, Laso, Arnaiz-Biyena,A. a new HLA-CW allele (CW0808) found in a Colombian Mestizo individual posibly generated by an intralocus/intraloci gene conversión. Inmunogenetics 2000; 51:1053-7

**60.** Silvera-Redondo C. Análisis de la estructura genética de la población Colombiana, mediante el estudio molecular de los genes HLA (tesis doctoral) Madrid. Universidad Complutense de Madrid, 2002.

**61.** Hernández A, Salamanca L, Ruiz F. Los grupos étnicos en la Colombia de hoy: Colombia una Nación Multicultural. Su diversidad Étnica. Capítulo 2. Bogota: DANE, 2007.

- 62.** Uribe M. Los grupos étnicos en Colombia: Intentos de cuantificación y criterios para el censo 1993 (tesis). Bogota. Universidad de los Andes: DANE, 1998.
- 63.** Rodríguez E. Colombia Una Nación Multicultural: Su diversidad Étnica. Capitulo 1. Bogota: DANE, 2007.
- 64.** Arango, R, Sánchez E. Los pueblos indígenas de Colombia en el umbral del nuevo milenio. Bogota: Departamento Nacional de Planeación, 2004.
- 65.** Gamboa JC, Fajardo L. Multiculturalismo y derechos humanos: una perspectiva desde el pueblo indígena Wiwa de la Sierra Nevada de Santa Marta. Bogota: ESAP, 1998: 93
- 66.** Pérez Palomino JN. Palenque. Patrimonio Oral e Inmaterial: entre lo tuyo y lo mío. En: Anaconda. Bogota. Fundación BAT Colombia, 2006: 50-64.
- 67.** Friedman N. Guerreros y ganaderos en Palenque. Bogota: Carlos Valencia Editores, 1979.
- 68.** Arranz M, Mancama D, Mata I, Kerwin R. Pharmacogenetic and Pharmacogenomic Research in Psychiatry: Current Advances and Clinical Applications. Curr Pharmacogenomics 2003; (1):151-58.

- 69.** Staddon S, Arranz M, Mancama D, Mata I, Kerwin R. Clinical applications of pharmacogenetics in psychiatry. *Psychopharmacol.* 2004 ;(162): 18-23
- 70.** Sim SC, Risinger C, Dahl ML, Aklillu E, Christensen M, Bertilsson L, Ingelman-Sundberg M. A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants *Clin Pharmacol Ther* 2006; 79(1):103-13
- 71.** Stamer U, Bayerer B, Stüber F. Genetics, pain and analgesia. *Anaesthesist* 2006; 55(7):746-52.
- 72.** Gates Brian J, Davies Neal M. AmpliChip for Cytochrome P-450 Genotyping: The Epoch of Personalized Prescriptions. 2006. *Hosp Pharm* 2006; 41(5):442–54.
- 73.** Ishida Y, Goto Y, Kondo T, Kuruta M, Nishio K, Kawai S, et al. Eradication rate of *Helicobacter pylori* according to genotypes of CYP2C19, IL-B, and TNF-A. *Int. J Med Sci* 2006; 3(4):135-40
- 74.** Aynacioglu AS, Brockmoller J, Bauer S, et al. Frequency of cytochrome P450 CYP2C9 variants in a Turkish population and functional relevance for phenytoin. *Br J Clin Pharmacol* 1999; 48(3): 409-15.

**75.** Gaikovitch EA, Cascorbi I, Mrozikiewicz PM, et al. Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP1A1, NAT2 and of P-glycoprotein in a Russian population. *Eur J Clin Pharmacol* 2003; 59(4): 303-12.

**76.** Allabi AC, Gala JL, Desager JP, Heusterspreute M, Horsmans Y. Genetic polymorphisms of CYP2C9 and CYP2C19 in the Beninese and Belgian populations. *Br J Clin Pharmacol* 2003; 56(6): 653-7.

**77.** Tamminga WJ, Wemer J, Oosterhuis B, de Zeeuw RA, Leij LF de, Jonkman JH. The prevalence of CYP2D6 and CYP2C19 genotypes in a population of healthy Dutch volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 2001; 57(10): 717-22.

**78.** Scordo MG, Aklillu E, Yasar U, Dahl ML, Spina E, Ingelman- Sundberg M. Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C9 in a Caucasian and a black African population. *Br J Clin Pharmacol* 2001; 52(4): 447-50.

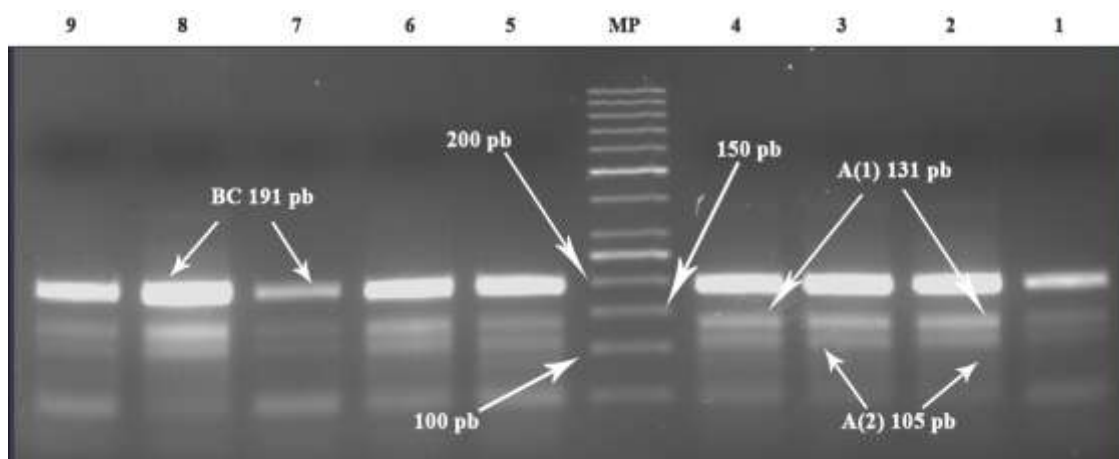
**79.** Bravo-Villalta HV, Yamamoto K, Nakamura k, Baya A, Okada Y, Horiuchi R. Genetic polymorphism of CYP2C9 and CYP2C19 in a Bolivian Population: an Investigative and comparative study. *Eur J Clin Pharmacol* 2005; 61(3): 179-84

- 80.** Svirid S, Shpizen S, Leitersdorf E, Levy M, Caraco Y. Phenotypic/genotypic analysis of CYP2C19 in the Jewish Israeli population. *Clin Pharmacol Ther* 1999; 65(3): 275-82.
- 81.** Nowak MP, Sellers EM, Tyndale RF. Canadian Native Indians exhibit unique CYP2A6 and CYP2C19 mutant allele frequencies. *Clin Pharmacol Ther* 1998; 64(4): 378-83.
- 82.** Chandrasekaran A, Jose R.; Sam SS, et al. CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphisms: frequencies in the south Indian population. *Fundam Clin Pharmacol* 2005; 19(1): 101-5.
- 83.** Lamba JK, Dhiman RK, Kohli KK. Genetic polymorphism of the hepatic cytochrome P450 2C19 in north Indian subjects. *Clin Pharmacol Ther* 1998; 63(4): 422-7.
- 84.** Herrlin K, Masele AY, Jande M, et al. Bantu Tanzanians have a decrease capacity to metabolize omeprazole and mephenytoin in relation to their CYP2C19 genotype. *Clin Pharmacol Ther* 1998; 64(4):391-401.
- 85.** Roh HK, Dahl ML, Tybring G, Yamada H, Cha YN, Bertilsson L. CYP2C19 genotype and phenotype determined by omeprazole in a Korean population. *Pharmacogenetics* 1996; 6(6): 547-51.

**86.** Tassaneeyakul W, Tawalee A, Tassaneeyakul W, et al. Analysis of the CYP2C19 polymorphism in a North-eastern Thai population. *Pharmacogenetics* 2002; 12(3): 221-5.

## ANEXOS

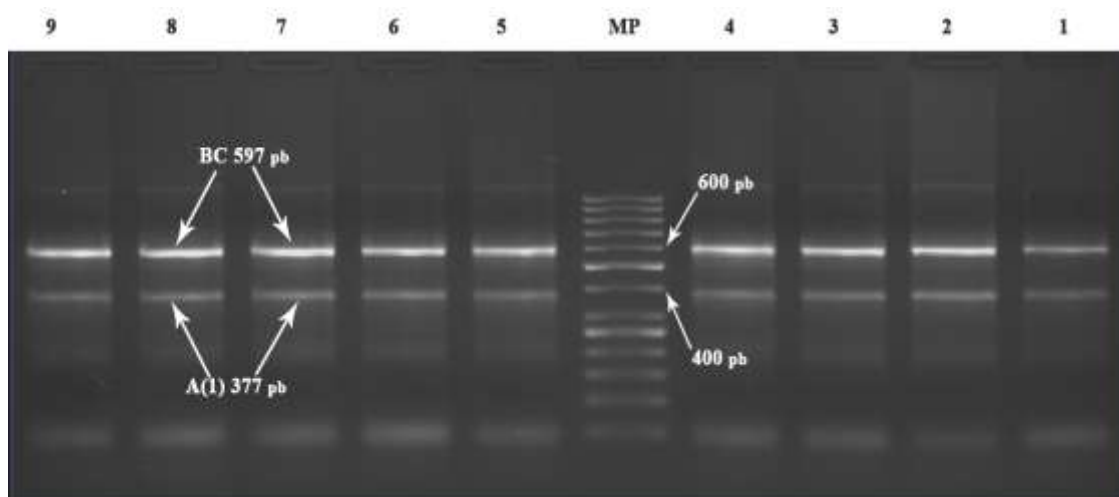
### Anexo 1. Población Indígena. CYP2C19 Exón 5 Posición 681



Electroforesis que muestra la amplificación del exón 5, posición 681. En los pozos 1-9, se observan 3 bandas: una banda común (BC) de 191 pb, una banda de 131 pb y una de 105 pb, correspondientes a los alelos 1\* y 2\* respectivamente. Pozo marcador de peso molecular (MP): 50 pb (casa comercial Fermentas).

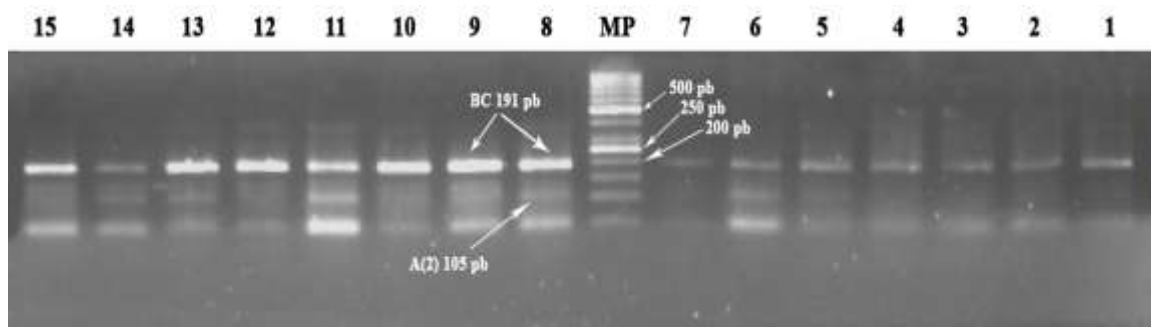


## Anexo 2 Población Indígena. CYP2C19 Exón 4 Posición 636



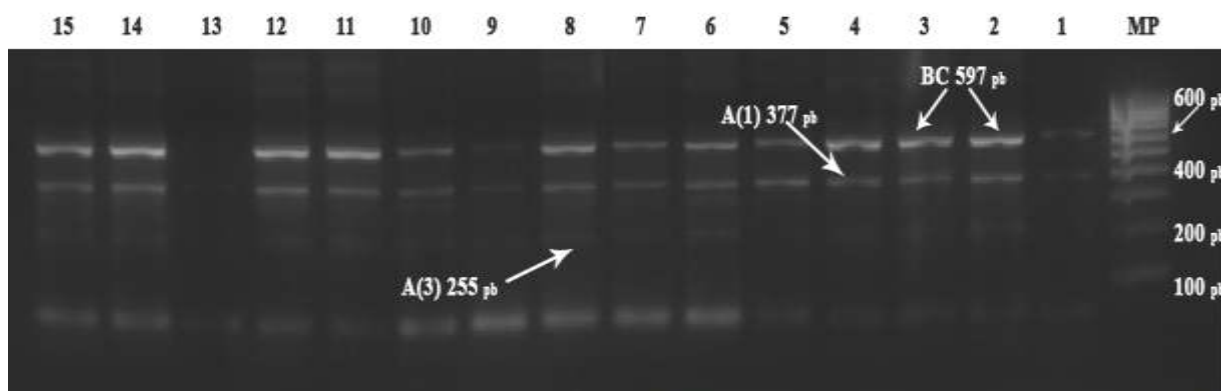
Electroforesis que muestra la amplificación del exón 4, posición 636. Pozos 1- 9, para los SNPs A/G. Se observan 2 bandas, que corresponde a la banda común (BC) de 597 pb, y una banda de 377 bp para el alelo 1\*. Pozo marcador de peso molecular (MP): 100 pares de bases (casa comercial Bioline).

### Anexo 3. Población Afrodescendiente. CYP2C19 Exón 5 Posición 681



Electroforesis que muestra la amplificación del exón 5, posición 681. En los pozos 1-15, para los SNPs A/G. Se observa la banda común, de 191 pb, y en los pozos, 6 8, 9, 11, 14,15 se observa una banda de 105 pb, correspondiente al alelo 2\*. Pozo marcador de peso molecular (MP): 50 pb (Casa comercial Fermentas).

#### Anexo 4. Población Afrodescendiente. CYP2C19 Exón 4 Posición 636



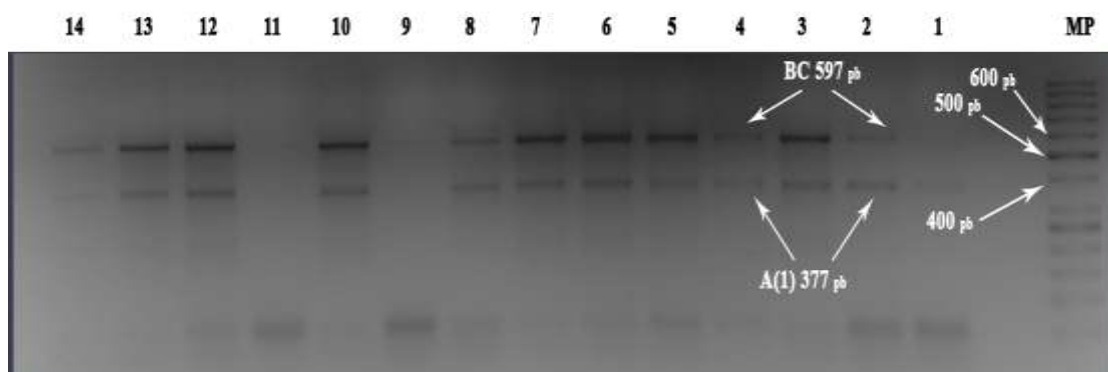
Electroforesis que muestra la amplificación del exón 4, posición 636. En los pozos 1 al 15 para los SNPs A/G. Se observan 2 bandas, que corresponden a la banda común (BC) de 597 pb, y una banda de 377 para el alelo 1\*, y en el Pozo 8 una banda de 255 pb para el alelo \*3. Marcador de peso molecular (MP): 100 pb. (Casa comercial Bioline).

## Anexo 5. Población Mestiza. CYP2C19 Exón 5 Posición 681



Electroforesis que muestra la amplificación del exón 5, posición 681. En los pozos 1-14, para los SNPs A/G. Se observan 2 bandas que corresponden a la banda común de 191 pb, la banda de 131 pb, correspondiente al alelo 1\* y una banda de 105 pb para el alelo \*2. Pozo marcador de peso molecular (MP): 50 pb. (Casa comercial Fermentas).

## Anexo 6. Población Mestiza. CYP2C19 Exón 4 Posición 636



Electroforesis que muestra la amplificación del exón 4, posición 636. En los pozos 1-14 para los SNPs A/G. Se observan 2 bandas, que corresponden a la banda común (BC) de 597 pb, y una banda de 377 pb para el “Alelo 1\*”. Marcador de peso molecular (MP): 100 pb. (Casa comercial Bioline).